Liège, 1922
14

UNIVERSITÉ DE LIÉGE

Thèse de doctorat spécial en Sciences anatomo-pathologiques

RECHERCHES

SUR LA

Régénération des Plaquettes

dans l'intoxication par la saponine et après défibrination du sang

PAR LE

Docteur Jean FIRKET

Extrait des *Archives de Biologie.*

LIÈGE
IMPRIMERIE H. VAILLANT-CARMANNE
4, Place Saint-Michel, 4

1922

UNIVERSITÉ DE LIÉGE

Thèse de doctorat spécial en Sciences anatomo-pathologiques

RECHERCHES

SUR LA

Régénération des Plaquettes

dans l'intoxication par la saponine et après défibrination du sang

PAR LE

Docteur Jean FIRKET

Extrait des *Archives de Biologie.*

LIÈGE
IMPRIMERIE H. VAILLANT-CARMANNE
4, Place Saint-Michel, 4

1922

LANE LIBRARY. STANFORD UNIVERSITY

Université de Liége. Faculté de Médecine

La présente dissertation peut être livrée à l'impression.

Le Président,
E. MALVOZ.

Le Secrétaire,
LUCIEN BECO.

Liége, le 6 juin 1922

Art. 4 de l'arrêté ministériel du 10 mars 1894. La dissertation, comme condition d'admission aux épreuves du doctorat spécial, ne peut être publiée qu'avec l'autorisation de la Faculté. En aucun cas, les opinions de l'auteur ne peuvent être considérées, par le fait de l'admission de son travail, comme étant celles de la Faculté ou de l'Université.

THÈSES

N° 1. — Il existe deux types d'hydrocéphalie totale (portant sur toutes les cavités ventriculaires) suivant la localisation des lésions qui empêchent la circulation du liquide céphalo-rachidien : 1° un type dû à l'obstruction totale de tous les orifices de communication entre le système ventriculaire et les espaces sous-arachnoïdiens (trou de Magendie, trous de Luschka) ; 2° un autre type, que l'on pourrait appeler hydrocéphalie communicante, dans lequel la lésion siège à la base du cerveau, au niveau des régions chiasmatiques ou prépédonculaires ou préprotubérantielles.

N° 2. — Les lésions et l'évolution de la bronchopneumonie suite de rougeole ou d'influenza, sont très différentes suivant que le microbe responsable est du pneumocoque, du streptocoque, du bacille de Pfeiffer ou du staphylocoque.

N° 3. — La pathogénie des tératomes est, dans l'état actuel de nos connaissances, encore douteuse ; il semble pourtant moins probable que ces néoplasmes soient le résultat du développement parthénogénétique de cellules sexuelles primordiales aberrantes, que le résultat du développement incomplet d'un embryon double dont le moins développé — en l'occurence le tératome — grandit, lorsque la croissance du plus développé — en l'occurence le sujet porteur de la tumeur — devient moins active.

Recherches sur la Régénération des Plaquettes dans l'Intoxication par la saponine et après défibrination du sang

PAR

le Dr JEAN FIRKET.

(Avec 2 planches)

INTRODUCTION

Les recherches qui font l'objet de ce mémoire ont été commencées fin 1920, dans le laboratoire du Professeur MAC CALLUM à Baltimore et avaient alors un objectif un peu différent de celui que nous leur donnons aujourd'hui (1). Notre but principal est d'éclaircir la question de l'origine et les conditions de régénération des plaquettes.

On sait que BIZZOZERO et surtout ACHARD et AYNAUD ont démontré que les plaquettes existent dans le sang circulant et ne sont pas le résultat d'un artefact lorsqu'on l'examine in vitro. Elles constituent le troisième élément figuré du sang et sont indépendantes des deux autres, au moins lors de leur complète différenciation. Cette notion de l'autonomie des plaquettes, aujourd'hui généralement admise, posait, dès sa démonstration, la question de leur origine. Depuis que, grâce surtout à AYNAUD, nous possédons des méthodes qui permettent de les distinguer des pseudo-plaquettes du sang (hémoconies, gouttelettes

(1) Avec le Docteur DE SOUZA CAMPOS, nous nous étions proposé de faire l'étude de l'anémie expérimentale produite par la saponine ; la raison en est exposée dans notre appendice nº 1. A notre retour de Baltimore, en septembre 1921, nous avons réuni les résultats atteints à ce moment, en deux notes publiées à la *Société de Biologie*. Depuis lors nous avons concentré notre attention uniquement sur le problème de la régénération des plaquettes ; nous avons eu l'occasion de préciser et d'amplifier nos conceptions d'alors et d'ajouter, par des expériences entreprises à l'Inst. d'anat. path. de Liége, de nouvelles données à cette étude. Nous en publions actuellement l'ensemble.

graisseuses, etc.) et que nous disposons de moyens sûrs pour les numérer, nous savons que, à l'état normal, elles existent en nombre constant pour chaque espèce, et que ce nombre constant est rétabli rapidement chaque fois qu'il a été diminué artificiellement. D'autre part, depuis les travaux de Bizzozero et de Hayem, on a attribué aux plaquettes un rôle important dans l'arrêt des hémorragies et Duke a démontré que le temps de saignement était prolongé, lorsque le nombre de plaquettes était petit. Bien que des recherches récentes (Roskam) aient appris que les facteurs qui font varier le temps de saignement sont multiples — on sait que Nolf avait attiré l'attention sur l'état de l'endothelium vasculaire — et que l'on peut avoir un temps de saignement prolongé avec un nombre de plaquettes normal, toutes les affections où ce nombre est diminué se traduisent de façon constante par des symptômes hémorragiques. Telles sont l'anémie aplastique, la leucémie aiguë, certaines affections primitives de la moëlle, certains purpuras. Il en ressort que l'étude des facteurs réglant le nombre des plaquettes du sang, reste un des côtés importants de l'étude des syndromes hémorragiques. On conçoit que la diminution du nombre des plaquettes du sang périphérique — la thrombopénie (Franck) — puisse être le résultat d'une déficience de leur production ou d'une exagération dans leur destruction — thrombocytolyse — ou encore de leur fixation dans les capillaires de quelque endroit de l'organisme où leur présence serait difficile à déceler. Par conséquent, toute étude de la courbe des plaquettes du sang périphérique doit tenir compte de chacune de ces possibilités et les effets de tout agent expérimental employé pour produire de la thrombopénie doivent être étudiés à ces trois points de vue.

Les théories les plus diverses sur l'origine des plaquettes ont été défendues. On les a fait dériver des globules blancs, des globules rouges, du noyau des hématies nucléées ; on les a considérées, et cette conception est encore défendue, comme de véritables cellules. Presque toutes ces théories sont abandonnées aujourd'hui, car elles reposent sur des travaux

plus ou moins entachés d'erreurs dues à l'imperfection des techniques employées. Une hypothèse plus plausible, défendue par J.-W. WRIGHT, est celle de l'origine des plaquettes aux dépens des cellules géantes — des mégacaryocytes — de la moëlle osseuse ou du tissu myéloïde.

En 1906, puis en 1910, ce pathologiste américain a signalé que si l'on étudie les moëlles de jeunes chats par un procédé spécial de coloration (fixation à l'alcool méthylique et coloration au Leishmann-acétone) on observe que certains mégacaryocytes de la moëlle ont un protoplasme en grande partie chargé de grains rouge lilas, de grains azurophiles. Les cellules ainsi constituées émettent de véritables prolongements pseudopodiques qui s'engageraient dans les capillaires de la moelle et, se fragmentant, se sépareraient du corps cellulaire qui leur a donné naissance. Les granulations azurophiles, dont ces masses protoplasmiques sont chargées, se groupent en petits amas dont l'aspect est semblable à celui que présentent les plaquettes sur les frottis de sang colorés par le Giemsa ou par les différents procédés de ROMANOWSKY.

La réalité de ces images, désignées communément dans la littérature hématologique sous le nom de figures de WRIGHT, a été confirmée par de nombreux auteurs (OGATA 1911, FOA 1913, NAEGELI 1914, CESARIS DEMEL 1914, FERRATA et NEGREIROS RINALDI 1915, d'autres encore).

AUX Etats-Unis, on a adopté l'hypothèse de WRIGHT, sans autre contrôle que celui des images histologiques sur lesquelles elle se basait ; en Angleterre, la plupart des pathologistes rejettent l'interprétation donnée à ces images, croyant, comme le faisait WOOLDRIDGE, que les plaquettes sont précipitées du plasma sanguin lors de son refroidissement. Cette opinion a été reprise récemment, en Italie, par PIANESE. En France, en Italie et en Allemagne, la plupart des hématologistes admettent l'hypothèse de WRIGHT, tandis que beaucoup de pathologistes ou de cliniciens considèrent que les arguments morphologiques sur lesquels elle repose et dont ils ne nient d'ailleurs pas l'exactitude, ne sont pas suffisants pour la prouver (FOTI, WINOGRADOW, PERRONCITO,

von SHILLING, GODLESWKI et d'autres) et ils lui opposent des faits cliniques et des résultats expérimentaux.

La plupart d'entre eux décrivent un autre mécanisme de production de plaquettes et attribuent aux mégacaryocytes une fonction différente.

D'autre part, en se basant sur des résultats favorables obtenus par la splénectomie dans l'évolution de certains purpuras, FRANCK et KAZNELSON, utilisant l'hypothèse de WRIGHT, ont émis sur la pathogénie des syndromes hémorragiques deux conceptions nouvelles dont il serait intéressant et utile d'établir la valeur. Pour FRANCK, la diminution du nombre des plaquettes, qui est un des caractères de certains syndromes hémorragiques, est due à une hormone sécrétée par la rate qui inhiberait l'évolution des mégacaryocytes chargés d'élaborer les plaquettes. KLEMPERER et HIRSCHFELD admettent aussi que la rate exerce une action inhibitrice sur l'activité de la moëlle. KAZNELSON, se basant en outre sur des constatations anatomopathologiques, déclare que la fonction plaquettogène des mégacaryocytes reste assurée, mais que la rate ou plutôt tous les tissus endothélioréticulés de l'organisme (rate, cellules de Kupffer du foie, tissu réticulé de la moelle, ganglions hémolymphatiques) détruisent, à l'état normal, les plaquettes ; cette fonction de thrombocytolyse serait, dans certains cas, exagérée et expliquerait la thrombopénie.

Il ressort de tous ces travaux que l'hypothèse de WRIGHT doit, avant d'être admise définitivement, être étayée par de nouveaux arguments. Il y a lieu de rechercher les conditions qui règlent la néoformation et l'évolution des mégacaryocytes, tout en suivant, d'une façon aussi précise que possible, le mécanisme de la destruction des plaquettes. Il y a lieu de voir quelles peuvent être les fonctions des cellules géantes de la moëlle et, notamment, si leur présence dans le tissu myéloïde s'explique en dehors d'une fonction plaquettogène.

Nous avons entrepris cette étude en utilisant des moyens qui tendent à débarrasser l'organisme de ses plaquettes sans

altérer, autant que faire se peut, les tissus chargés de les régénérer. Pour cela, nous avons eu recours d'abord à l'intoxication par la saponine. Bunting avait déjà montré en 1909 que ce poison diminuait considérablement les plaquettes du sang circulant. Nous avons reconnu qu'il les lysait dans le torrent circulatoire tout comme il lyse les globules rouges. Après avoir précisé ce mode d'action, nous avons cherché à établir le mécanisme de la régénération des plaquettes détruites et nous avons procédé à l'étude de l'évolution cytologique et autant que possible fonctionnelle des mégacaryocytes.

Une étude parallèle a été entreprise après enlèvement des plaquettes par la défibrination du sang et après leur destruction par le sérum antiplaquettes; ces moyens présentent, comme la saponine, l'avantage d'exercer sur les plaquettes une action pour ainsi dire spécifique et de ne pas altérer pratiquement les tissus hématopoïétiques. Nos recherches avec le sérum antiplaquettes ne seront pas exposées dans ce mémoire.

* * *

Nous suivons dans notre exposé le plan suivant :

1° Quelques renseignements sur les techniques employées.

2° L'étude générale de l'intoxication par la saponine et particulièrement ses effets sur les tissus hématopoïétiques. Cette étude constitue le préliminaire obligé de l'étude de son action sur les plaquettes.

3° Le mode d'action de la saponine sur les plaquettes d'après les expériences in vivo et in vitro.

4° La régénération des plaquettes détruites par la saponine, chapitre qui comprendra l'étude de l'évolution cytologique et fonctionnelle des mégacaryocytes.

5° Les recherches sur la régénération des plaquettes enlevées à l'organisme en défibrinant le sang.

6° L'étude et la critique d'observations et d'expériences récentes ayant défendu d'autres mécanismes de production de plaquettes que celui décrit par Wright. Une attention

particulière sera portée sur l'hypothèse de FERRATA envisageant la possibilité de l'élaboration de plaquettes par des cellules conjonctives monocytoïdes et sur les travaux de PIANESE et de PERRONCITO.

7° Un résumé et des conlusions générales.

TECHNIQUES EMPLOYÉES

73 lapins ont été utilisés pour ces recherches. Parmi eux les lapins 1 à 57 (inclus) et les lapins 63, 68, 71, 72, 73, ont été employés pour les expériences avec la saponine. Cinq d'entre eux ont été splénectomisés ; quatre ont reçu en outre des injections d'un colorant vital, le bleu trypan. Les lapins 64, 65, 66, 67, 69 et 70 ont subi la défibrination de leur sang par saignées répétées et on leur a réinjecté de leur sang défibriné ; les lapins 58, 59, 60 , 61 et 62 ont été injectés de sérum antiplaquettes et ne sont pas utilisés dans ce mémoire.

Le détail de chacun de ces traitements sera donné en temps voulu.

Les saponines employées provenaient de deux sources : des Heil laboratories Inc. à Chicago (saponine chimiquement pure) pour les lapins numérotés de 1 à 45 ; de chez Merck à Leipzig pour les autres. Sous le terme de saponine on désigne, dans le commerce, un mélange de glucosides différents ; il est fort probable que les produits américains et allemands ne sont pas absolument identiques. Leur pouvoir hémolytique et leur action physiologique sur l'activité des tissus hématopoïétiques furent pourtant sensiblement les mêmes. Le poison fut toujours injecté en solution dans du liquide physiologique, à des concentrations diverses et à des doses qui variaient de 1/2 à 7 1/2 mmg. par kilo d'animal. Ces injections furent toutes faites dans les veines , le plus souvent celles de l'oreille, car sous la peau la saponine produit des abcès stériles (KOBERT). Lorsque la concentration de la solution de saponine est élevée, des thromboses vasculaires se produisent à

l'endroit d'injection, par suite sans doute de l'action nécrosante du poison sur l'endothélium. Dans le cas où les injections avaient été répétées souvent, pendant plus de deux à trois semaines, cette thrombose vasculaire devint parfois gênante ; il se produisit de l'oedème ou même de la sclérose du tissu cellulaire de l'oreille. Ce fut là une condition dont il fallut tenir compte pour éviter les causes d'erreur dans les numérations de plaquettes.

Les autopsies furent faites tout de suite après la mort, sauf dans quelques cas où l'animal était trouvé mort dans la cage et où le délai maximum n'excéda pas neuf heures. Il en fut tenu compte pour les examens de la moelle, étant donné la rapidité avec laquelle ce tissu subit une autolyse qu'il faut se garder de considérer comme de la dégénérescence ou même de la nécrose.

Systématiquement on recueillit foie, rate, moëlle osseuse du fémur, du tibia, des humérus, ganglions lymphatiques, poumons et reins. Comme liquide fixateur, au début des recherches, le liquide de Helly (Zenker + 5 % formol) fut employé ; plus tard le liquide de Dominici ; enfin, pour la recherche des plaquettes dans les coupes, surtout le sublimé alcoolique. A l'examen des coupes histologiques, nous avons ajouté, pour chacun des trente derniers lapins, l'examen d'étalement de la moëlle et de la rate entre deux lamelles, procédé conseillé fréquemment par les hématologistes (voir l'Emopatie de Ferrata) et qui permet une meilleure étude des éléments cellulaires par l'emploi des colorants appropriés du sang. Les colorations des coupes ont été faites soit à l'hématoxyline et à l'éosine, soit au panchrome de Laveran et au Giemsa, déshydratées à l'acétone, passées au xylol et montées au baume. Les colorations des étalements sur lames ont été faites soit au panchrome de Laveran, soit au May Grünwald-Giemsa. On connaît les avantages multiples de ces colorants, tous dérivés du Romanowsky et qui mettent en présence, dans un même mélange, quatre colorants de réaction et d'affinité chimique différentes (Pappenheim, Traité du sang) : un colorant basique, le bleu de méthylène, un acide, l'éosine

et deux neutres, l'éosinate de bleu de méthylène et l'éosinate d'azur de méthylène. Tous les hématologistes se sont ralliés à l'emploi de ces colorants qui donnent les images les plus différenciées et les plus constantes.

Pour se faire une idée exacte de l'état de la moelle de lapin, il est nécessaire de faire des coupes sur toute la longueur de l'organe et de se rappeler qu'elle présente chez l'adulte normal, une proportion d'éléments myéloïdes, inégalement répartis, beaucoup plus abondante que celle de la moëlle des autres mammifères.

Les numérations de globules rouges ont été faites par les moyens habituels à l'aide d'une cellule de Thoma-Zeiss ; les dosages d'hémoglobine à l'aide d'un hémoglobinomètre de Sahli.

Les numérations de plaquettes nécessitent quelques éclaircissements. Devant la difficulté d'appliquer le procédé Aynaud de prise du sang dans la veine, par une canule paraffinée, pour des numérations répétées chez un animal aussi petit que le lapin, nous avons employé au début de nos expériences, à Baltimore, un procédé qui, tout en n'étant pas à l'abri de toute critique, nous a cependant donné des résultats satisfaisants : après avoir soigneusement rasé puis séché l'oreille du lapin, nous faisions, à l'aide d'un bec de plume, une ponction de la veine marginale de l'oreille et nous recueillions la première goutte de sang, qui s'échappe ainsi brusquement, dans la pipette à globules rouges. Nous diluions avec le liquide suivant : 30 cc. de citrate de soude à 3 % dans du liquide physiologique à 8.5 % et 1 cc. d'une solution à 1/150 de bleu de crésyl brillant, la solution ayant été préalablement filtrée. Le mélange est assuré dans un agitateur électrique,puis une goutte est déposée dans la cellule de Thoma-Zeiss ; on attend 25 minutes pour que toutes les plaquettes soient déposées et on compte globules rouges et plaquettes sur 400 petits carrés. Ce procédé comporte, comme cause d'erreur, l'agglutination des plaquettes aux lèvres de la plaie, mais celle-ci est rendue presque nulle si l'on agit vite et sur du sang jaillissant du premier coup hors de la veine. Les plaquettes apparaissent sous forme d'éléments

arrondis, à contours irréguliers, présentant une couleur uniforme bleue très nette, éléments légèrement plus grands qu'ils ne le sont lorsqu'on les examine directement sur du sang frais sédimenté. AYNAUD les a bien vus ainsi altérés par du bleu de crésyl brillant. Ces formes d'altération sont si caractéristiques que la numération en est facile ; les globules rouges ne sont pas colorés, les globules blancs renferment quelques granulations vivement colorées mais peu nombreuses. L'agglutination des plaquettes sous l'effet du contact du verre peut être partiellement évitée lorsqu'au préalable on aspire, dans le tube capillaire, un peu du liquide de dilution, puis qu'on rejette celui-ci, laissant ainsi les parois du tube mouillées. On établit alors le rapport des plaquettes et des hématies et l'on fait une seconde numération de globules rouges suivant le procédé ordinaire (technique proposée aussi par PORT et AIYAMA). Ce moyen de numération dont nous reconnaissions, au début de nos recherches, les causes d'erreur, nous a cependant donné des résultats peu différents de ceux obtenus par la méthode d'AYNAUD. Naturellement, toute numération de sang ainsi dilué, dans laquelle une agglutination même légère de plaquettes existait, était écartée comme non valable. (1).

Le chiffre élevé des plaquettes du lapin permet de mieux se rendre compte de ses fluctuations et fait ainsi de cet animal un matériel de choix. Pourtant, nous avons été fort heureux lorsque, en octobre dernier, PAGNIEZ et MOUZON ont publié leur procédé de numération de plaquettes dans le sang pris au doigt, sans ponction veineuse. Il consiste à faire saigner directement le doigt dans le liquide de dilution (liquide de Marcano) et à établir dans une goutte de cette dilution le rapport de globules rouges-plaquettes ; il a l'avantage de permettre des numérations plus souvent répétées et donne des résultats très semblables à ceux de la méthode de AYNAUD. Il peut être employé pour le lapin à condition de

(1) La moyenne de ncs numérations chez le lapin nous a donné 570.000 plaquettes par mmc.

raser et nettoyer très soigneusement l'oreille : on ponctionne la veine marginale de l'oreille ou une de ses branches que l'on plonge et laisse saigner directement dans le liquide de Marcano. C'est le procédé dont nous nous sommes servi pour toutes les expériences ayant trait au problème de la régénération des plaquettes (lapins 51 à 73).

CHAPITRE I.

Etude de l'Intoxication par la Saponine

Avant de nous occuper de la question dont nous avons fait le but principal de ce mémoire, la régénération des plaquettes, nous devons, comme préliminaire au chapitre des recherches dans lesquelles la saponine a été employée, étudier l'effet général exercé par ce poison sur le lapin.

Action générale du poison.

Dans la deuxième édition de son traité sur les intoxications, Kobert signale que la saponine nécrose le protoplasme qu'il touche. Toute cellule isolée, à quelque organe qu'elle appartienne (foie, rein, etc.), est vite altérée au contact d'une solution de saponine. Injectée sous la peau, elle produit un abcès stérile très douloureux chez l'homme ; injectée dans les veines, elle porte surtout son action sur les globules rouges; dans le plasma, elle n'altère pour ainsi dire pas les globules blancs. Il semble que d'autres éléments que les hématies y soient fort sensibles et on a notamment signalé, comme tels, les cellules des noyaux de la base du cerveau.

En général, il nous a paru qu'en dehors de son action sur les tissus hématopoïétiques, la saponine ne produisait pas de lésions histologiquement révélables ; pourtant son action nocive est certaine, car tous nos lapins qui avaient reçu, en une seule injection, une dose supérieure à 6 mmg. par kilo, moururent en quelques heures, sans avoir atteint un degré d'anémie suffisant pour expliquer cette mort.

Dans une étude anatomo-pathologique du genre de celle que nous avons entreprise, les observations doivent se borner aux seuls tissus de l'organisme dont les lésions et les réactions peuvent être suivies microscopiquement : le sang et les organes hématopoïétiques. Ajoutons d'ailleurs que, étant

donné que le sang a le pouvoir de fixer la saponine, et que les doses employées dans la plupart de nos expériences furent relativement faibles, il semble que l'action extrasanguine du poison fut négligeable.

Tests hémolytiques in vitro.

Dans son article sur l'hémolyse dans le dictionnaire de Richet, Nolf signale l'étude très complète que Ranson fit de l'hémolyse par la saponine. A la suite de ces travaux, il a été admis que la cholestérine du plasma, aussi bien que celle du globule rouge, fixe la saponine en se combinant avec elle.

« La cholestérine, qui existe normalement dans le plasma, fournit à ce dernier son pouvoir antihémolytique à l'égard de la saponine. » On sait, en effet, qu'il faut des concentrations de saponine beaucoup plus fortes pour hémolyser les globules contenus dans le plasma, que pour hémolyser les globules lavés. Clark et Evans ont montré récemment que d'autres facteurs encore que la cholestérine intervenaient dans le pouvoir protecteur du sérum contre l'hémolyse par la saponine. Il est donc certain que, pour juger de l'effet anémiant de la saponine chez l'animal, il faudrait, dans chaque cas, mesurer la teneur du plasma sanguin en facteurs protecteurs. Pour nous mettre, à ce point de vue, dans des conditions plus ou moins comparables, nous avons nourri nos animaux de la même façon (avoine et eau) et nous avons utilisé des mâles afin d'éviter l'hypercholestérinémie de la grossesse.

La cholestérine du globule rouge fixe, elle aussi, la saponine sur le stroma du globule, « mais cette fixation devient nocive pour l'hématie dès qu'elle dépasse une certaine limite ; le globule est alors tellement altéré qu'il laisse échapper, en tout ou en partie, son hémoglobine ». Cette notion aujourd'hui admise, nous fit craindre, au début de nos expériences, que la résistance de nos lapins, aux mêmes doses de saponine, serait modifiée au cours du traitement par ce poison : nous résolûmes de nous en rendre compte par une série de tests hémolytiques portant sur les globules lavés.

TABLEAU I.

N° du lapin	Date	Hémolyse commence à	Hémolyse est complète à	Observations
23	21 mai 1921	1 p. 62.800	1 p. 55.000	avant inject.
30	21 mai	1 p. 62.800	1 p. 55.000	»
30	28 mai	1 p. 62.800	1 p. 55.000	»
30	31 mai	1 p. 62.800	1 p. 48.800	»
38	30 juin	1 p. 62.800	1 p. 55.000	»
21	—	1 p. 62.800	1 p. 55.000	avant inject.
24	—	1 p. 62.800	1 p. 55.000	»
21	—	1 p. 62.800	1 p. 55000	apr. 6 inj. en 7 jours.
24	—	1 p. 62.800	1 p. 55.000	apr. 3 inj. en 4 jours.
33	—	1 p. 62.800	1 p. 48.800	apr. 11 inj. en 15 jours.
25	—	1 p. 62.800	1 p. 55.000	apr. 10 inj. en 10 jours.

Pour cela, nous avons recueilli du sang dans du citrate de soude à la dilution de 1 % et nous l'avons immédiatement centrifugé ; nous avons lavé trois fois les globules avec une solution de NaCl à 9 °/oo, puis nous en avons fait une suspension à 3 % dans la même solution. A 1 cc. d'une dilution de saponine, nous ajoutons 2 gouttes de la suspension de globules. Le système hémolytique est alors placé, pendant 4 heures, au bain marie à 38° et plusieurs fois agité pendant ce laps de temps. La lecture est faite après une demi-heure de sédimentation en glacière.

Les résultats sont consignés dans le tableau I :

Ceci nous montre que la sensibilité à la saponine des globules rouges lavés est très semblable d'un lapin à l'autre et qu'elle ne paraît pas varier, du moins dans de grandes limites, au cours de l'intoxication par la saponine.

Nous nous sommes servis, dans nos expériences

in vivo, de quelques lapins préalablement splénectomisés. Nous avons cherché à établir pour eux aussi la sensibilité de leurs globules à la saponine.

Les résultats sont consignés dans le Tableau II.

TABLEAU II.

N° du lap.	Spénectomisé depuis	Hémolyse commence à	Hémolyse est complète à
29	2 jours	1 p. 73.300	1 p. 55.000
27	7 jours	1 p. 62.800	1 p. 55.000
8	7 jours	1 p. 62.800	1 p. 55.000
19	11 jours	1 p. 62.800	1 p. 48.800
29	12 jours	1 p. 62.800	1 p. 48.800
27	15 jours	1 p. 62.800	1 p. 48.800
19	18 jours	1 p. 73.300	1 p. 55.000
19	48 jours	1 p. 73.300	1 p. 48.800

Il semble bien d'après ces résultats que *la résistance des globules rouges à la saponine, chez les lapins splénectomisés, n'est guère modifiée et n'est en tous cas pas augmentée.* Il est intéressant de noter à ce propos que le même lapin 19, 5 jours avant le dernier essai, a montré une augmentation de sa résistance globulaire à des solutions hypotoniques de NaCl. En effet, alors que, chez deux lapins normaux, l'hémolyse commençait à 0.54 % et était complète à 0.31 %, chez le lapin 19, splénectomisé depuis 42 jours, l'hémolyse commençait à 0.45 % et était complète à 0.27 % ; sa résistance était donc augmentée.

La plupart des auteurs admettent qu'après la splénectomie, la résistance aux solutions hypotoniques est faiblement augmentée (BOTTAZZI, DOMINICI, ROCAVILLA et CHARLIER). PEARCE reconnut que, chez le chien, cette augmentation de la résistance globulaire, après splénectomie, ne se bornait pas seulement aux solutions hypotoniques, mais s'étendait aux autres facteurs hémolysants, notamment à la saponine.

Nos observations sur les lapins splénectomisés ne paraissent pas conformes à celles de PEARCE chez le chien, mais elles concordent avec celles de Mc NEIL chez l'homme.

Au point de vue qui nous occupe, ces tests nous montrent que la sensibilité à la saponine des globules lavés est restée assez constante chez tous nos lapins. Seul, ainsi que nous l'avons dit plus haut, le mécanisme antihémolytique du sérum peut avoir varié. Nous nous sommes maintenu dans les meilleures conditions pour conserver sa constance.

Action de la saponine in vivo, non compris le problème des plaquettes

Grâce à son pouvoir hémolytique, la saponine, lorsqu'elle est injectée in vivo, produit de l'anémie. Les traités classiques enseignent que cette anémie ressemble incomplètement à l'anémie aplastique d'Ehrlich. Il y a en effet aplasie de la moëlle osseuse, mais, fait curieux, il existe en même temps une métaplasie myéloïde de la rate. (Eppinger et Foa).

On se demande par quel mécanisme l'action inhibitrice de la saponine s'exercerait seulement sur l'activité de la moëlle, alors qu'elle n'empêcherait pas les autres potentialités myéloïdes de se développer.

L'exposé de nos expériences nous permettra d'envisager ce problème.

Bien que nous ayons cherché à rendre constants, à doses égales, les effets destructeurs du poison, en mettant les lapins aux mêmes conditions d'alimentation, nous avons observé que nos lapins réagissaient suivant deux types apparemment distincts à l'intoxication. Les uns devenaient rapidement anémiques, perdaient du poids, ne mangeaient plus au bout de trois à cinq jours, puis mouraient au bout d'environ une semaine en état de misère physiologique, le poil hérissé, amaigris et prostrés (lapins 3, 5, 19, 24, 38 et 63). Les autres, qui recevaient des doses de saponine un peu moins fortes, ou les mêmes doses (en moyenne 2 à 3 mmg. par kilo d'animal) moins souvent répétées, devenaient aussi anémiques au début de l'intoxication, mais assez vite l'anémie ne progressait plus malgré la continuité du traitement ; au contraire, le nombre des globules rouges s'élevait à nouveau,

l'animal reprenait de l'appétit, redevenait vif : un état d'équilibre était atteint entre les pertes sanguines produites par le poison et les effets de l'activité régénératrice des tissus hématopoïétiques (lapins 11, 12, 33, 52 et 57).

Un certain nombre de nos lapins ne rentrent pas dans une de ces deux grandes catégories : ils avaient reçu de fortes doses de saponine (plus de 6 mmg. par kilo) et sont morts en quelques heures, sans être profondément anémiés. Chez eux, sans doute, le poison s'est fixé en dehors du sang, sur des cellules très sensibles dont l'altération suffit à donner la mort (cellules nerveuses du bulbe ?)

Arrêtons-nous un instant à la description des cas de ce dernier groupe, car elle nous facilitera la compréhension de l'action du poison.

Ier Groupe (lapins 39, 40, 41, 42, 53, 56 et 71). — Deux protocoles d'expériences montrent la courbe des globules rouges et la formule hémoleucocytaire après l'injection d'une forte dose de saponine ayant amené la mort en quelques heures.

Lapin 56. — Poids 2,610 kgs.

25 novembre 1921 : (16 h. 30) 5.216.000 globules rouges par mm³. Pas de polychromatophilie ni d'hématies nucléées ; 21 % de polynucléaires pseudoéosinophiles, 8% de basophiles, 68% de lymphocytes, 3 % de monocytes.

(16 h. 40) reçoit dans les veines 10 milligrammes de saponine dans 4 cc. de liquide physiologique.

(16 h. 50) pas de changement dans l'aspect du sang sur frottis.

(17 h. 30) 5.144.000 globules rouges.

(17 h. 45) apparition de globules rouges à noyau picnotique. Forte polychromatophilie. Le nombre des monocytes a augmenté et atteint 8 % du chiffre des leucocytes.

(18 h. 40) les normoblastes deviennent plus nombreux. Polychromatophilie.

26 novembre (12 h. 30) 5.600.000 globules rouges. Nombreuses hématies nucléées jeunes, jusque 5 par champ microscopique, la plupart ont un cytoplasme hémoglobinifère.

(18 h. 35) 6.496.000 globules rouges. Grand nombre d'hématies nucléées dont certaines n'ont pas d'hémoglobine et dont le proto-

plasme est entièrement basophile (érythroblastes lymphoïdes). Le lapin meurt à 2 h. du matin, soit environ 34 heures après l'injection.

Lapin 53 ;

24 octobre 1921 : Opéré de splénectomie. Suites opératoires bonnes.

26 octobre : 4.560.000 globules rouges. Poids : 2,510 grammes.

18 novembre : 3.696.000 globules rouges. 64 % de lymphocytes petits et grands. 26 % de pseudo éosinophiles ; 4 % de basophiles ; 6 % de monocytes.

23 novembre : (12 h.) 4.144.000 globules rouges. Poids : 2870 grammes.

(2 h. 45) reçoit une injection intraveineuse de 10 milligrammes de saponine dans 4 cc. de liquide physiologique.

(2 h. 55) légère polychromatophilie.

(4 h.) 4.096.000 globules rouges. Polychromatophilie intense. 45 % de polynucléaires amphophiles; 10 % de monocytes ; 5,5 % de basophiles ; 38,5 % de lymphocytes.

(5 h.) nombreux polynucléaires ; nombre énorme de normoblastes à noyau picnotique et protoplasme hémoglobinifère.

24 novembre (12 h.) 4.610.000 globules rouges. Hématies nucléées nombreuses, érythroblastes lymphoïdes et normoblastes à noyau rayonné.

(16 h. 30) 4.400.000 globules rouges. Même image que le matin mais encore accentuée.

25 novembre : le lapin meurt à 5 heures, soit environ 38 heures après l'injection.

L'effet de l'injection d'une forte dose de saponine chez ces deux lapins est absolument identique : la courbe des hématies est parallèle bien que l'un des deux ait été splénectomisé. Au cours des deux premières heures, il y a une diminution du nombre des globules rouges, diminution due sans doute à la destruction par hémolyse; puis la courbe se relève en même temps qu'apparaissent dans le sang de nombreuses hématies jeunes : d'abord, des hématies polychromatophiles ou à protoplasme amphophile mais sans noyau ; puis, dès deux heures après l'injection, des hématies nucléées ayant un protoplasme hémoglobinifère et un noyau picnotique, plus tard des normoblastes hémoglobinifères, mais à noyau à réseau

chromatinien rayonné et, 24 heures après, de véritables érythroblastes lymphoïdes, formes ancestrales d'hématies sans aucune trace d'hémoglobine. Le brusque passage de ces jeunes hématies ou de ces normoblastes dans le sang est si intense que, malgré la grande quantité de poison hémolysant injectée, on arrive en moins de 24 heures à une véritable polyglobulie, le chiffre des globules rouges dépassant celui qui existait avant l'injection.

* * *

Pour s'expliquer ces effets, il faut se rappeler que la moëlle du lapin adulte présente toujours, à l'état normal, des éléments myéloïdes, donc de jeunes hématies. Il est certain que, dans les conditions de l'expérience, le temps écoulé est trop court pour que de nouvelles hématies puissent se différencier dans la moëlle. Mais l'injection provoque l'expulsion dans le sang circulant de cellules qui se trouvaient déjà dans la moëlle et qui, dans des conditions normales, y auraient achevé leur évolution. Ces cellules apparaissent dans le sang circulant dans l'ordre qu'elles occupaient vraisemblablement dans la moëlle : les plus rapprochées des vaisseaux d'abord (hématies sans noyau mais à protoplasme amphophile), ensuite les plus éloignées, c'est-à-dire les moins différenciées (érythroblastes lymphoïdes). Ceci nous fait croire que la saponine ne fait que provoquer une exagération du mécanisme normal de passage des éléments myéloïdes différenciés dans le torrent sanguin.

En fait, nous ne connaissons pas encore grand chose des facteurs qui règlent ce mécanisme ; le déversement dans le sang d'éléments myéloïdes jeunes est une question différente de celle de la différenciation de nouveaux éléments médullaires qui, elle, caractérise l'hyperplasie de la moëlle des os. Un fait clinique rend cette distinction plus claire : il n'est pas rare de constater, dans le sang de certains anémiques, une absence complète de signes de régénération de globules rouges, alors que, à l'autopsie, on trouve la moëlle des os

longs hyperplastique : la réserve cellulaire suffisante pour la régénération existe, mais le mécanisme d'excrétion ne fonctionne pas (voir notre appendice nº 2). Comme le signale EPPINGER, l'étude analytique de ce mécanisme devrait être faite. C. K. DRINCKER fait remarquer que, sous ce rapport, les globules rouges se distinguent tout à fait des globules blancs, les premiers étant passifs, les seconds capables d'entrer dans les capillaires grâce à leurs mouvements amoeboïdes. Cette étude est liée à notre connaissance des rapports qui existent, dans la moëlle normale, entre les globules rouges et l'endothélium des capillaires. Des recherches récentes faites, sous la direction de F. R. SABIN, par C. A. DOAN montrent qu'il existe dans les moelles du pigeon une réserve d'endothélium beaucoup plus grande que l'on ne s'imagine d'habitude ; beaucoup de capillaires y sont le plus souvent affaissés et invisibles sur les coupes de l'organe, mais on peut les mettre en évidence en perfusant, sous une pression convenable, la moëlle de l'animal vivant avec du liquide physiologique chargé d'encre de Chine (1). Une étude analytique du mode d'action des fortes doses de saponine faite en tenant compte des données anatomiques que nous venons de signaler peut éclaircir le mécanisme d'expulsion des cellules myéloïdes dans le torrent sanguin.

* * *

Outre la réaction normoblastique, qui produit de l'hyperglobulie, l'injection d'une forte dose de saponine augmente, au cours des 3 à 4 premières heures, le nombre des leucocytes. Il paraît y avoir surtout augmentation des polynucléaires, mais seulement de façon passagère. Une réaction plus lente mais plus durable est l'augmentation du nombre

(1) En opérant de la même manière sur la moëlle de lapin, nous avons pu nous assurer de la présence d'un réseau de capillaires entièrement tapissés d'endothélium, réseau dont la distribution est surtout bien visible sur des coupes épaisses, fixées et éclaircies par la méthode de SPALTEHOLZ.

des monocytes ; ce nombre passe de 4 à 6 % à 10 à 15 %. Cette augmentation ne paraît pas nous apprendre grand' chose sur l'action de la saponine ; peut être pourrait-on admettre une action sur l'endothélium des sinus veineux de la rate ou des ganglions, dont les monocytes dérivent chez l'adulte, au moins aux yeux de beaucoup de pathologistes.

Toutes les autopsies des lapins de ce groupe donnent des résultas concordants. On ne constate aucune lésion en dehors de la moëlle osseuse ; celle-ci est le siège d'une hyperémie considérable, marquée le plus souvent par une dilatation de ses capillaires ; il y a même parfois des hémorragies. Il n'existe pas, dans ces cas, d'hyperplasie myéloïde. Nous verrons par l'étude des groupes suivants l'effet de l'hyperémie et des hémorragies sur le bon fonctionnement de la moëlle.

2e Groupe. — Il comprend des lapins qui sont devenus rapidement anémiques sous l'effet d'injections quotidiennement répétées. Ces lapins sont morts ou ont été sacrifiés au bout de 5 à 8 jours.

Lapin 3. — Forte taille.

10 mars 1921 : 4. 084. 000 globules rouges. 104 % d'hémoglobine. 11.400 blogules blancs.

(16 h.) injection intraveineuse de 5 milligrammes de saponine dans 2,5 cc. de liquide physiologique.

11 mars (13 h.) 2.416.000 globules rouges, 44.000 leucocytes.

(16 h.) injection intraveineuse de 5 milligrammes de saponine dans 2,5 cc. de liquide physiologique.

12 mars : injection intraveineuse de 4 milligrammes de saponine dans 2 cc. de liquide physiologique. Paraplégie des membres postérieurs.

14 mars : lapin en état de misère physiologique ; ne mange pas. 400.000 globules rouges. 10.200 globules blancs. 85 % d'hémoglobine.

Autopsie : Moelle osseuse : hyperplastique ; nombreux normoblastes et hématies polychromatophiles ; nombreux mégacaryocytes ; ceux-ci contiennent dans leur protoplasme des leucocytes polynucléaires à granulations pseudoéosinophiles, on est tenté de dire que les premiers montrent une forte tendance à phagocyter ; en outre, dilatation des vaisseaux médullaires et foyers hémorra-

giques multiples. Rate : légèrement augmentée de volume, elle montre sur les coupes microscopiques une métaplasie myéloïde, dans laquelle les mégacaryocytes dominent, à tel point qu'on est tenté de n'y voir qu'une réaction mégacaryocytaire pure. Ces mégacaryocytes contiennent, eux aussi, dans leur corps cytoplasmique des polynucléaires pseudoéosinophiles et de petits lymphocytes (?) ; la métaplasie myéloïde n'intéresse que la pulpe splénique, les corpuscules de Malpighi ne contenant que des éléments lymphoïdes ; dans la pulpe splénique, il existe en outre de nombreux macrophages qui contiennent des grains de pigment. On retrouve des mégacaryocytes dans les gros sinus veineux et dans la veine splénique.

Foie : sur les coupes microscopiques on retrouve, dans les capillaires, des mégacaryocytes, dont l'origine splénique est, au moins pour la plupart d'entre eux, certaine. Il est possible que certains d'entre eux soient différenciés sur place. Dans les capillaires hépatiques, on voit aussi des amas de myélocytes et des érythroblastes.

Poumons : sur les coupes on retrouve quelques mégacaryocytes réduits à un noyau déformé très chromophile, arrêtés dans les capillaires ; ils ont été entraînés dans le courant sanguin du système porte et ceux qui n'ont pas été arrêtés dans les capillaires du foie sont arrêtés dans ceux du poumon.

Capsules surrénales : rares mégacaryocytes dans les capillaires.

Rein : normal.

Les frottis de sang, faits chaque jour pendant la vie du lapin, n'ont guère montré de signes de régénération sanguine ; on n'y a également pas vu de mégacaryocytes : ceux-ci ont été entraînés dans le sang circulant profond, mais ont été fixés, à cause de leurs grandes dimensions, dans les capillaires avant d'atteindre le sang périphérique. La présence de mégacaryocytes emboliques dans les capillaires du poumon avait été vue déjà par Asschoff et Sapegno.

Les autres lapins qui ont présenté une évolution clinique analogue à celle du lapin 3 (lapins 5 et 63) offraient aussi les mêmes lésions à l'autopsie ; il est donc inutile d'en donner les protocoles . Nous donnerons celui du lapin 24 qui a reçu cinq jours de suite des doses de saponine analogues aux précédents après quoi il fut sacrifié, alors qu'il était en bonne condition : les organes hématopoïétiques montrent une hyperplasie considérable semblable à celle décrite pour le lapin 3.

Lapin 24. — Poids 1940 grammes. Femelle pleine.

17 mai 1921 : 7.168.000 globules rouges, 13.200 globules blancs, 111 % d'hémoglobine.

22 mai : injection intraveineuse de 5,8 milligrammes de saponine dans 1,5 cc. de liquide physiologique.

23 et 24 mai : même injection.

25 mai : 5.568.000 golbules rouges, 15.200 globules blancs, 71 % d'hémoglobine. Le lapin est en bonne condition quand il est sacrifié.

Autopsie .— Moëlle osseuse : hyperplasie notable et dilatation intense des capillaires.

Rate : nombreux mégacaryocytes, quelques myélocytes et normoblastes.

Foie : quelques mégacaryocytes dans les capillaires ; peu de myélocytes et normoblastes.

Ganglions lymphatiques : normaux.

Poumons : mégacaryocytes à noyau déformé dans les capillaires.

Capsules surrénales : normales ; pas d'éléments myéloïdes.

En résumé, les lapins de ce groupe sont caractérisés par une hyperplasie généralisée des organes hématopoïétiques (moelles osseuses, rate, parfois même foie). Cette hyperplasie myéloïde n'a pu pourtant, dans la plupart des cas, arrêter la marche progressive de l'anémie provoquée par la saponine. Il est certain que la polyglobulie déclanchée au début par l'administration de fortes doses du poison, ne se produit pas ici où les quantités injectées sont plus petites (2 à 3 mmg. par kilo) ; cette hyperglobulie n'a pu durer car la moëlle osseuse a vite épuisé ses réserves. Les pertes sanguines dépassent de beaucoup les effets de la régénération. Le lapin 24 seul fait exception, car chez lui les effets des mêmes doses de poison hémolysant ont été beaucoup moindres ; peut-être que le taux élevé de la cholestérine sanguine, qui accompagne d'habitude l'état de grossesse, a mieux protégé les hématies contre l'influence de saponine, et que les tissus myéloïdes hyperplasiés ont pu le maintenir en équilibre.

3e Groupe. — Il comprend les lapins chez lesquels l'intoxication par la saponine a été prolongée. Après une courte période d'anémie, avec affaiblissement de l'état général,

ces lapins se sont trouvés, grâce à l'activité de leurs organes hématopoïétiques, dans un état d'équilibre, au cours duquel le processus de réparations contrebalançait les pertes en globules rouges occasionnés par chaque injection de saponine. Il semble que la réparation sanguine soit surtout due à l'activité fonctionnelle des tissus hématopoïétiques accessoires (rate, foie et même ganglions lymphatiques), car c'est ici que nous voyons apparaître les lésions de la moelle osseuse qui ont fait considérer, à tort , la saponine comme un agent produisant une anémie aplastique.

Citons d'abord un cas où l'équilibre entre les pertes et les réparations sanguines ne fut pas établi, en raison des doses toujours croissantes injectées, mais où l'altération médullaire était très développée.

Lapin 4 ;

Du 16 mars au 4 avril 1921, il reçoit 15 injections de saponine, de doses croissantes de 6 à 10 grammes. Il devint progressivement anémique dès le début, car au bout de 10 jours, le nombre de ses globules rouges était tombé de 6.000.000 à 1.000.000. Celui des globules blancs était resté constant ; le taux de l'hémoglobine était tombé à 47 %. Le 5 avril, l'animal très amaigri mourait.

Autopsie. — Elle révèle de l'hypertrophie du foie, de la rate et des ganglions mésentériques ; les coupes microscopiques montrent une métaplasie myéloïde avec prédominance de mégacaryocytes dans la rate ; quelques éléments myéloïdes dans le foie ; quelques mégacaryocytes dans les capillaires des capsules surrénales ayant passé, sans doute, par des rameaux de communications avec les veines spléniques.

Les moelles osseuses nous intéressent surtout : dans l'ensemble, elles sont hyperplastiques, mais elles sont parsemées de foyers bien limités de tissus absolument nécrotiques où aucune différenciation cellulaire n'est plus possible, où il existe de nombreuses images de picnose et de caryorexis. Tous les éléments myéloïdes (érythroblastes, myéloblastes et myélocytes, mégacaryocytes) sont atteints par la nécrose. On croirait avoir affaire à un infarctus, tellement l'ensemble de la zone morte est bien limité ; elle est entourée d'une hyperémie de tissus sains avec, par endroits, de petites hémorragies.

En réalité, nous avons affaire ici à des lésions qui sont la conséquence des troubles vasculaires que nous avons vus déjà dans la moëlle des lapins des deux premiers groupes.

Nous donnerons deux protocoles d'expériences typiques pour illustrer ce qui se passe chez les lapins de ce groupe. Ces deux protocoles se complètent, car les doses administrées sont fort semblables et la comparaison des réactions réparatrices est intéressante en raison de la splénectomie opérée chez un des lapins.

Lapin 12. — Poids 2,340 kgs.

29 avril 1921 : 5.632.000 globules rouges, 9.200 globules blancs. 93 % d'hémoglobine.

30 avril : injection intraveineuse de 5,6 milligrammes de saponine dans 1,4 cc. de liquide physiologique.

2 mai : 2.567.000 globules rouges ; 30.000 leucocytes ; 72 % d'hémoglobine. Après l'examen, même injection.

3 mai : même injection.

4 mai : 1.392.000 globules rouges ; 8.000 leucocytes ; 65 % d'hémoglobine.

5 mai : même injection.

6 mai : 2.400.000 globules rouges ; 6.200 leucocytes ; 50 % d'hémoglobine. Après examen, même injection.

9 mai : 3.328.000 globules rouges ; 4.400 leucocytes ; 50 % d'hémoglobine. Après examen, même injection.

10 mai : Même injection.

11 mai : 3.936.000 globules rouges ; 10.000 leucocytes ; 65 % d'hémoglobine. Même injection.

L'animal meurt brusquement.

Autopsie. — La moelle des os longs est ferme et dense, d'un gris rosé en certains points, blanc grisâtre en d'autres. Sur les coupes, dilatation des capillaires, foyers hémorragiques, foyers de nécrose, avec à leur pourtour un commencement de cicatrisation marquée par des anses capillaires et des fibroblastes embryonnaires.

La rate contient beaucoup de mégacaryocytes et de nombreux macrophages abondamment chargés de pigment ferrugineux.

Foie : mégacaryocytes dans les capillaires ; cellules hépatiques chargées de pigment.

Poumon : quelques mégacaryocytes dénudés de protoplasme dans les capillaires.

Lapin 11 :

22 avril 1921 : 6.992.000 globules rouges, 11.000 globules blancs. 104 % d'hémoglobine.

23 avril : rate enlevée sous anesthésie à l'éther. Pas d'hémorragies.

27 avril : 8.096.000 globules rouges, 6.900 globules blancs, 105% d'hémogline.

30 avril : 7.752.000 globules rouges. 103 % d'hémoglobine. Poids : 1700 grammes. Injection intraveineuse de 4 milligrammes de saponine dans 1 cc. de liquide physiologique.

2 mai : 4.256.000 globules rouges, 12.000 globules blancs, 95 % d'hémoglobine.

3 mai : même injection.

4 mai : 3.200.000 globules rouges, 24.000 globules blancs, 90 % d'hémoglobine. Même injection.

5 mai : même injection.

6 mai : 3.232.000 globules rouges, 16.000 globules blancs. 72 % d'hémoglobine. Même injection.

9 mai : 4.800.000 globules rouges. 11.600 globules blancs. 90 % d'hémoglobine. Même injection.

10 mai : même injection.

11 mai : 5.560.000 globules rouges. 6.000 globules blancs. 90 % d'hémoglobine. Même injection.

12 mai : Poids 1600 grammes.

13 mai : 6.008.000 globules rouges, 6.400 globules blancs. 100 % d'hémoglobine. Même injection.

14 mai : Même injection, répétée le 15 et le 16 mai.

17 mai : 7.392.000. Même injection. Le lapin est en excellente condition. Il est sacrifié pour servir de contrôle au précédent (nº 12)

Autopsie. — Moelle osseuse presque partout hyperplastique avec abondance relative de mégacaryocytes. Ceux-ci montrent des « images de phagocytose ». Il y a pourtant des portions de moelle encore graisseuses. Nombreux foyers hémorragiques. Quelques endroits sont transformés en tissu cicatriciel avec des fibroblastes élaborant des fibrilles conjonctives.

Foie : pigment ferrugineux dans les cellules hépatiques. Mégacaryocytes dans les capillaires. Presque pas de myélocytes.

Capsules surrénales : normales.

Ganglions lymphatiques : plusieurs mégacaryocytes en très bon état, évidemment nés sur place, situés à la marge des cordons folliculeux. Comme il n'y a pas d'autres éléments myéloïdes formés, on peut vraiment parler ici de réaction mégacaryocytaire pure des ganglions.

Voilà donc un lapin dont les moëlles osseuses sont partiellement sclérosées. Il est en parfait équilibre sanguin et pourtant ses globules rouges sont toujours sensibles à la saponine, car il n'y a ni accoutumance durant l'intoxication, ni augmentation de résistance du fait de la splénectomie. La rate n'est plus là pour faire les frais de la régénération sanguine : le foie et les ganglions lymphatiques en ont supporté tout l'effort.

* * *

Les exemples ressortissant de chacun des groupes pourraient être répétés ; nous en avons dit assez pour nous rendre compte de l'action de la saponine sur le sang et les organes hématopoïétiques.

Poison hémolysant énergique, la saponine, injectée à fortes doses dans les veines (plus de 6 mmgr. par kilo), provoque une polyglobulie transitoire due au passage dans le sang de beaucoup d'érythroblastes incomplètement différenciés. Elle augmente aussi, mais d'une façon plus durable, le nombre des monocytes du sang.

Au cours de l'intoxication par petites doses répétées (1 à 3 mmgr.) il n'y a jamais d'aplasie de la moëlle contrairement à ce qui est admis classiquement (Foa, Eppinger). Bien au contraire le poison stimule toutes les potentialités myéloïdes latentes de l'organisme ; il est même capable d'opérer ce que Dominici appelait « la transformation myéloïde des organes lymphoïdes ». Le groupe uniciste des hématologistes admet aujourd'hui que les éléments primordiaux du sang (lymphoïdocytes de Pappenheim, hémocytoblastes de Ferrata), lorsqu'ils se trouvent dans les ganglions lymphatiques, évoluent le plus souvent vers la série lymphoïde, mais restent capables, suivant les circonstances, de se différencier dans le sens myéloïde, ainsi qu'ils le font normalement dans la moëlle osseuse.

La principale raison qui fait que la saponine stimule les potentialités myéloïdes de l'organisme est qu'un facteur

vient troubler, dans son rendement normal, le bon fonctionnement de la moëlle ; dès le début de l'intoxication, en effet, on constate une dilatation énorme des capillaires et, à la suite de celle-ci, des hémorragies. Est-ce là le résultat d'un déséquilibre de pression dû à la subite hyperémie d'un organe clos dans une boîte à parois inextensibles, ou s'agit-il d'une action toxique spécifique de la saponine sur l'endothélium des capillaires médullaires ? Il est certain que cet endothélium est spécialisé et adapté à sa fonction synthétique (Brass) Il est certain aussi que les cellules voisines de cet endothélium, pour ne pas dire l'endothélium lui-même, ont une composition chimique fort voisine de celle des hématies. Une action destructive de la saponine à leur égard n'est donc pas très surprenante. Il convient pourtant d'ajouter que l'endothélium n'est pas complètement détruit et que notamment sa fonction macrophage (mise en évidence par l'emploi des colorants du groupe de la benzidine, tel que le trypan bleu) est conservée en grande partie.

Quel que soit le mécanisme qui altère d'une façon quasi spécifique l'endothélium des capillaires de la moëlle, cette altération se traduit histologiquement à nos yeux par sa conséquence : l'hémorragie. On ne constate d'hémorragies nulle part ailleurs et pourtant, lorsque la saponine est injectée dans les veines, toutes les cellules endothéliales doivent subir son action à des concentrations très semblables.

Le résultat des hémorragies dans la moëlle est facile à concevoir : troubles vasculaires, malnutrition de certaines portions de la moëlle, nécrose, sclérose cicatricielle subséquente. Ce n'est pas du tout de l'aplasie, car la moëlle ne reste pas dans son état graisseux normal : rien n'empêche les cellules primordiales du tissu myéloïde de se différencier, si elle sont bien nourries, empêchement qui est la caractéristique de certains états pathologiques comme l'anémie aplastique ou le résultat de moyens expérimentaux, comme l'inanition provoquée (Blumenthal et Morawitz). Il n'y a ici qu'une altération vasculaire qui empêche plus ou moins le fonctionnement normal d'un tissu différencié en pleine activité.

Isaac et Mockel, en voyant que la rate des animaux intoxiqués par la saponine, présentait une transformation myéloïde très intense, alors qu'il n'y avait aucune modification leucémique du sang, ont cru qu'ils avaient reproduit expérimentalement un état partiel de leucémie myéloïde aleucémique. Nous ne le croyons pas. Il nous paraît plus simple d'admettre que devant les pertes sanguines de l'organisme, alors que les organes hématopoïétiques normaux sont partiellement rendus inefficaces, une métaplasie myéloïde vicariante se soit établie.

Bunting et Aynaud, les seuls auteurs qui, en dehors des précédents, ont aussi employé la saponine in vivo, n'ont pas envisagé son action au point de vue hématologique général. Nous nous occuperons de leurs travaux à l'occasion du problème des plaquettes.

CHAPITRE II.

Les Plaquettes et l'intoxication par la Saponine

Action de la saponine sur les plaquettes.

L'étude histologique des animaux intoxiqués par la saponine nous a montré, entre autres choses qu'elle provoque l'apparition en différents endroits de l'organisme, de nombreux mégacaryocytes. Dès que nous nous en aperçûmes, en raison de l'hypothèse de Wright sur l'origine mégacaryocytaire des plaquettes, nous fixâmes notre attention sur ces derniers éléments.

Depuis que Bunting (1909) avait constaté que la saponine diminuait le nombre des plaquettes du sang périphérique — observation que nous ignorions d'ailleurs au début de cette partie de nos recherches — on a reconnu, surtout à la suite des travaux d'Achard et Aynaud que beaucoup de substances arrivaient à ce résultat (peptone, électrargol, gélatine, ovalbumine, sérums hétérogènes, etc.). Le plus souvent, cette diminution du nombre des plaquettes du sang périphérique suit immédiatement l'introduction de ces substances dans le torrent sanguin. La diminution, parfois la disparition complète, est transitoire. L'action de la saponine est plus durable. Nous avons insisté, au début de ce travail, sur la nécessité qu'il y a de suivre parallèlement dans toute étude — clinique ou expérimentale — de la courbe des plaquettes du sang périphérique, le mécanisme de destruction et le mécanisme de régénération. Nous avons donc cherché à établir pourquoi les plaquettes diminuaient dans l'intoxication par la saponine.

Nos premières expériences montrent que la saponine, injectée in vivo, diminue lentement et progressivement le nombre des

plaquettes du sang circulant. C'est ce qu'indiquent les trois protocoles suivants :

Lapin 41 :

1er juillet 1921 : (9 h.) présente 6.150.000 globules rouges ; 532.000 plaquettes. (1)
(10 h. 30) reçoit 15 milligrammes de saponine dans 7.5 cc. de solution physiologique.
(12 h. 50) 4.800.000 globules rouges, 320.000 plaquettes.
(14 h. 30) 4.936.000 globules rouges ; 290.000 plaquettes.
(16 h. 39) 5.008.000 globules rouges ; 272.000 plaquettes.

Lapin 56. — Poids 2610 grammes (2).

25 novembre 1921 (16 h. 30) 5.216.000 globules rouges ; 624.000 plaquettes.
(16 h. 40) reçoit 10 milligrammes de saponine dans 4 cc. de liquide physiologique.
(17 h. 30) 5.144.000 globules rouges ; 760.000 plaquettes.
26 novembre : (12 h. 30) 5.600.000 globules rouges ; 139.000 plaquettes.
(18 h. 30) 6.496.000 gobules rouges ; 78.000 plaquettes.

Lapin 53. — Splénectomisé le 24 octobre 1921.

23 novembre : Poids : 2,870 kgs.
(12 h.) 4.144.000 globules rouges ; 708.000 plaquettes.
(14 h. 45) Injection de 10 milligrammes de saponine dans 4 cc. de liquide physiologique.
(16 h.) 4.096.000 globules rouges ; 496.00 plaquettes.
(17 h.) 4.688.000 globules rouges ; 460.000 plaquettes.
24 novembre : (12 h.) 4.610.000 globules rouges ; 200.000 plaquettes.
(16 h. 30) 4.400.000 globules rouges ; 124.000 plaquettes.

Les courbes de plaquettes des deux lapins, comme d'ailleurs celles de leurs globules rouges, sont parfaitement parallèles, malgré l'absence de la rate chez l'un d'eux. (53). *Donc la diminution du chiffre des plaquettes, après l'injection de*

(1) Numérations faites par notre procédé décrit au chapitre : Techniques employées.
(2) Numérations faites par le procédé de PAGNIEZ et MOUZON.

saponine, n'est pas due à une exagération de leur destruction dans la rate. On sait, en effet, qu'à la suite des recherches de PREISICH et HEIM, BERNHARDT LESOURD et PAGNIEZ, et KAZNELSON, on tend aujourd'hui à accorder à la rate le pouvoir de détruire les plaquettes.

Leur diminution lente et progressive peut paraître en désaccord avec la seule expérience faite in vivo (chien) avec la saponine par AYNAUD (nº 549 page 142 de sa thèse). Il injecta une solution de saponine à la dose de 66 mmgr. par kilo et s'aperçut que, après quelques minutes, les globulins avaient disparu et qu'il y avait en même temps une extrême leucopénie; une heure et demie après l'injection, ils reparaissaient en petits amas, mais leur nombre était d'un quart du nombre normal. La courbe n'a pas été suivie au delà. L'animal était dans le coma immédiatement après l'injection. Nous croyons qu'il s'agit ici, non d'une action spécifique de la saponine sur les plaquettes, mais d'une véritable action de choc, comme en produit, par exemple, la peptone injectée dans le torrent sanguin et comme le fait croire aussi la leucopénie observée. Dans une seule de nos expériences (lapin 73), où nous avons essayé de reproduire l'expérience d'AYNAUD, et où nous avions également injecté une dose considérable (environ 36 mmgr. par kilo , nous avons observé une agglutination très rapide des globulins.

Nous avons recherché si, après une injection de saponine, nous trouverions une distribution différente des plaquettes du sang périphérique et du sang de la circulation viscérale, ainsi que cela semble être le cas après l'injection de substances colloïdales. Il n'en fut rien.

Lapin 39 :

28 juin 1921 : 6.576.000 globules rouges, 670.000 plaquettes.
(13 h. 15) injection de 25 milligrammes de saponine dans 20 cc. de liquide physiologique.
(14 h. 45) 6.070.000 globules rouges ; 360.000 plaquettes.
(16 h. 45) 4.800.000 globules rouges ; 328.000 plaquettes à la veine margi. 4.832.000 globules rouges ; 304.000 plaquettes à la veine porte.

Autre exemple :

Lapin 44 :

11 juillet 1921 (8 h. 30) 6.626.000 globules rouges, 782.000 plaquettes.

(9 h. 15) injection intraveineuse de 15 milligrammes de saponine dans 5 cc. de liquide physiologique.

(11 h. 20) 6.400.000 globules rouges ; 342.000 plaquettes.

(13 h. 15) 6.144.000 globules rouges ; 280.000 plaquettes.

(16 h.) 6.648.000 globules rouges ; 220.000 plaquettes, tandis qu'un peu plus tard, au sang de la veine splénique, découverte sous anesthésie à l'éther : 4.896.000 globules rouges, 200.000 plaquettes.

Ces épreuves ne nous auraient pas décelé l'existence éventuelle d'amas de plaquettes, arrêtés dans les capillaires viscéraux, qui ont été vus dans certaines maladies infectieuses à symptômes purpuriques (scarlatine par BERNHARDT, typhoïde par KAZNELSON) ou dans certaines conditions expérimentales, tels que l'injection de sérum antiplaquettes (LESOURD et PAGNIEZ et moi-même) ou celle de certaines suspensions microbiennes (DELREZ et GOVAERTS).

Nous avons recherché chez quelques-uns de nos lapins, sacrifiés au moment où la saponine avait diminué considérablement le nombre des plaquettes périphériques, à en mettre en évidence sur les coupes de la rate, du foie, des poumons, des ganglions ou des moëlles osseuses. Nous nous sommes servis du procédé décrit par LESOURD et PAGNIEZ en 1911 et employé avec succès par BERNHARDT et plus récemment par KAZNELSON (fixation au Dominici ou au sublimé alcoolique, coloration au Giemsa très lent, différenciation à l'acétone xylol). Ces recherches (lapins 53, 56, 68, 71) ont été négatives.

Nous basant sur la disparition lente et progressive des plaquettes, sur leur égale distribution dans le torrent circulatoire et sur l'absence d'amas de plaquettes dans les organes où elles ont été le plus souvent trouvées dans les cas de « thrombopénie », nous avons cru que la saponine exerçait sur elles une action lysante dans le sang. Nous avons cherché à con-

firmer cette opinion par nos recherches sur l'action in vitro.

Expériences in vitro. — Dans ce but nous avons entrepris à Baltimore une série d'expériences qui nous firent admettre, ainsi que nous l'avons communiqué à la Société de Biologie, en octobre dernier, que la saponine exerce in vitro, sur les plaquettes contenues dans le plasma, une action lytique plus énergique encore que son action hémolytique. Cette conclusion était basée sur les expériences suivantes.

Pour chaque lapin, nous avions établi préalablement la sensibilité à la saponine des globules rouges lavés. Nous avions ensuite mélangé le sang, recueilli directement de la veine dans la pipette à globules rouges, d'une part, avec du liquide physiologique ou du liquide de dilution ordinaire pour numération des plaquettes, d'autre part, avec du liquide physiologique additionné de saponine, de manière à ce que la concentration soit inférieure — ou égale — à celle qui donne l'hémolyse sur les globules lavés ; de cette façon, nous étions certains de ne pas produire l'hémolyse des globules en suspension, dans le plasma dilué ; nous faisions alors, dans une cellule de Thoma-Zeiss, la numération des plaquettes dans le liquide de dilution normale d'une part, et dans la solution de saponine d'autre part.

Nous rejetons aujourd'hui ces expériences dont la technique est criticable. C'est pourquoi nous ne donnons pas le résultat des nombreuses numérations que nous avions faites. Il est certain qu'en procédant de la sorte, comme d'autres expériences nous l'ont montré depuis, il peut se produire une agglutination de plaquettes sous l'influence de la saponine et que seules les plaquettes isolées passent facilement dans le tube capillaire de la pipette, pour être finalement numérées.

En procédant selon la technique employée par Aynaud, nous sommes arrivé, à la conviction que la saponine, in vitro, lysait les plaquettes à des concentrations assez semblables à celle où elle lyse les globules rouges. Nos recherches confirment, en cela, celles d'Aynaud sur le sang du chien.

La technique suivie est la suivante : du sang, recueilli à la carotide par canule paraffinée, est progressivement mélangé

à de l'oxalate de K. à raison de 2 %, dans une éprouvette paraffinée ; puis dans des tubes paraffinés, on ajoute à 4.5 cc. de sang, au moyen d'une pipette paraffinée, 0.5 cc. de dilutions diverses de saponine. On évite le refroidissement des dilutions . Le système entier est placé à l'étuve à 38°, on laisse sédimenter et, après 4 heures, on voit surnager une colonne d'environ 1.5 cc. de plasma, ne contenant comme éléments figurés que des plaquettes. En agitant légèrement le tube, on fait apparaître dans ce liquide surnageant, des ondes soyeuses, sans pour cela bouleverser les globules rouges plus lourds. S'il y a hémolyse, le liquide uniquement chargé de plaquettes est coloré.

On examine une goutte du liquide surnageant de chacun des tubes. Les plaquettes apparaissent, avec leur forme allongée, réfringente, habituelle dans le plasma oxalaté, comme un trait net, très mince quand elles sont vues de profil, plus fusiformes quand elles ont atteint le fond de la cellule de Th. Zeiss et y sont vues de face.

Les résultats après 4 heures de sédimentation sont démontrés dans le tableau III. (10 mars 1922) :

Après 8 heures, les conditions d'agglutination sont les mêmes, sauf dans le tube 4 où une agglutination légère apparaît. Les plaquettes du tube 2 sont toutes agglutinées ; il n'y a plus d'éléments isolés entre les amas. Leur forme est altérée, leur réfringence paraît diminuée, leurs contours sont irréguliers et anfractueux ; il y en a dont les caractères sont méconnaissables.

Après 20 heures (toujours à l'étuve à 38°), l'action du froid ayant été écartée, les plaquettes de tous les tubes, même du tube témoin, ne sont plus fusiformes, mais arrondies ou polygonales avec parfois de fins prolongements : il s'agit là des altérations banales des plaquettes in vitro, décrites par Aynaud. Dans les tubes 5, 6 et 7, on ne peut guère parler d'agglutination. Il est difficile de voir si l'on a affaire à une lyse de plaquettes, car les altérations de forme ne sont pas assez caractéristiques et une numération précise, dans les conditions de l'expérience, n'est pas possible.

TABLEAU III

Tube I	Tube II	Tube III	Tube IV	Tube V	Tube VI	Tube VII
1/2 cc. liq. phys. à 9 0/00 + 4.5 cc. sang oxalaté à 2 0/00	1/2 cc. sap. à 1 0/0 + 4.5 cc. sang oxalaté à 2 0/00 soit 1 0/00 sap.	1/2 cc. sap. à 1/200 + 4.5 cc. sang oxalaté à 2 0/00 soit 1/2000 sap.	1/2 cc. sap. à 1/500 + 4.5 cc. sang oxalaté à 2 0/00 soit 1/5000 sap.	1/2 cc. sap. à 1/750 + 4.5 cc. sang oxalaté à 2 0/00 soit 1/7500 sap.	1/2 cc. sap. à 1 0/00 + 4.5 cc. sang oxalaté à 2 0/00 soit 1/10000 sap.	1/2 cc. sap. à 1/1500 + 4.5 cc. sang oxalaté à 1 0/00 soit 1/15000 sap.
Ni hémolyse Ni agglutination	Hémolyse assez forte Agglutination forte de plaquettes	Hémolyse faible Agglutination faible de plaquettes	Pas d'hémolyse Pas d'agglutination	Pas d'hémolyse Pas d'agglutination	Pas d'hémolyse Pas d'agglutination	Pas d'hémolyse Pas d'agglutination

Dans le tube 2 et 3 il y a d'énormes amas de « poussières informes », cadavres de plaquettes, dont le nombre a fort diminué : il y a eu lyse.

Cette expérience, répétée une fois dans la suite, a donné des résultats identiques.

* * *

En résumé, conformément à l'opinion d'Aynaud et contrairement à ce que nous écrivions en octobre dernier, *nous admettons que la saponine lyse les plaquettes in vitro après les avoir agglutinées. Cette action lytique est assez parallèle à l'action hémolytique. La même action lytique s'exerce toujours dans le sang circulant, mais il est peu probable qu'elle y soit précédée d'une agglutination. Cette action in vivo est lente, bien différente de l'action de choc que produisent instantanément et transitoirement beaucoup de substances colloïdales étrangères au milieu humoral.*

Avant nous, Bunting avait vu le chiffre des plaquettes diminuer à la suite d'injection de saponine in vivo. Il avait cru à une destruction de ces éléments, mais nos idées sur la disparition des plaquettes du sang et sur leur processus normal de destruction n'étaient pas assez avancées pour qu'il cherchât à établir, d'une façon plus précise, l'action du poison. Nous croyons pourtant que l'action plaquettolytique de la saponine est utile à connaître, non seulement pour les recherches du genre des nôtres, qui visent le problème de la régénération des plaquettes, mais aussi pour celles qui cherchent à établir le rôle fonctionnel de ces éléments.

Sans entrer ici dans la question obscure de la composition chimique des plaquettes, il faut signaler pourtant que tous les auteurs qui s'en sont occupés, ont admis que, outre des nucléoprotéides, il devait y exister un fort pourcentage de substances lipoïdes (Lilienfeld, Aynaud, et A. Vila, Bordet et Delange). On sait d'autre part que l'action hémolytique de la saponine est due à sa fixation sur les lipoïdes des globules rouges (Ranson, Wells). Ce serait à cause de

de leur richesse en lipoïdes que plaquettes et globules rouges sont si sensibles à la saponine ; il est d'autres agents hémolysants, agissant sans doute par un mécanisme différent, qui sont sans action sur les plaquettes (AYNAUD.)

LA RÉGÉNÉRATION DES PLAQUETTES DANS L'INTOXICATION PAR LA SAPONINE

Dans le chapitre I, nous avons signalé que la métaplasie myéloïde de la rate et des autres tissus hématopoïétiques accessoires des lapins intoxiqués par la saponine présente un caractère particulier. Sans doute, tous les éléments myéloïdes, à savoir myélocytes, myéloblastes et métamyélocytes, d'une part, érythroblastes et érythrocytes jeunes, d'autre part, sont présents ainsi que l'on peut s'en assurer, sur les coupes fixées et colorées directement au Panchrome; mais ce qui frappe, dans cette métaplasie, c'est l'abondance plus grande des mégacaryocytes relativement à leur nombre dans la moëlle osseuse normale. Ce caractère est surtout marqué chez les lapins intoxiqués par des doses petites et longtemps répétées (plusieurs semaines) et chez lesquels, par suite de la très rapide régénération des globules rouges, toute nouvelle injection ne produit plus d'anémie.

On est tenté de parler, dans ces cas, de métaplasie mégacaryocytaire pure. L'abondance de cellules aussi différenciées que les cellules géantes du tissu myéloïde paraît répondre à un besoin spécial de l'organisme : en effet, les mégacaryocytes, comme d'ailleurs tous les éléments myéloïdes néoformés en dehors des moëlles osseuses se sont différenciés aux dépens de cellules à potentialités diverses ; ils ne sont pas, comme ceux de la moëlle des os, le résultat de la multiplication d'éléments cellulaires préexistants et déjà différenciés. Il semble logique de croire que la différenciation de tissus métaplasiques s'adapte donc facilement aux réels besoins de l'organisme.

Deux de nos lapins splénectomisés furent particulièrement instructifs à cet égard : ils avaient reçu, l'un pendant un mois, l'autre pendant 3 semaines, des injections de saponine dont

ils réparaient presque journellement les effets. A l'autopsie, on constate que la moëlle est très altérée, le foie présente une métaplasie myéloïde légère ; les ganglions lymphatiques présentent, comme seuls éléments myéloïdes, des mégacaryocytes, ce que nous n'avions jamais observé dans les ganglions lymphatiques de 5 lapins ayant conservé leur rate (21, 22, 23, 24 et 25). La potentialité myéloïde des tissus lymphoïdes avait été stimulée en raison même de l'absence de la rate, mais elle ne l'avait été que pour la formation de ceux des éléments myéloïdes dont l'organisme avait, à ce moment, le plus grand besoin.

Si notre raisonnement est juste, et si l'hypothèse de Wright se confirmait, on pourrait dire que les mégacaryocytes sont nombreux au cours de l'intoxication par la saponine, parce que les plaquettes sont diminuées de nombre et doivent être régénérées. Or, les mégacaryocytes apparaissent dans la rate ou les ganglions, 4 à 5 jours après le début de l'intoxication. C'est à ce moment, semblerait-il, que la courbe des plaquettes devrait se relever.

Cette démonstration serait nécessaire à faire pour étayer l'hypothèse de Wright par d'autres faits que les seules images histologiques ; et cela, d'autant plus que l'on a fréquemment invoqué, en clinique, comme un argument contre cette hypothèse, la présence concomitante d'une « thrombopénie » du sang circulant et d'une abondance de mégacaryocytes dans les tissus myéloïdes (Godlewski). Tout récemment encore, cet argument a été développé par Perroncito qui cite une observation précise de Cesa Bianchi. Ce dernier auteur rapporte un cas de splénomégalie myéloïde aleucémique, dans lequel la rate, fortement augmentée de volume, pesait 1520 grammes et contenait un grand nombre de « cellule gigante de Bizzozero » tandis que le chiffre des plaquettes du sang était peu élevé. Nous pourrions citer, comme une observation clinique du même genre, le cas décrit dans notre appendice n° 1.

Il y a lieu de voir si ces observations cliniques constituent des arguments contre l'hypothèse de Wright. Nous avons

remarqué dans l'intoxication par la saponine que, pendant quelques jours au moins, le nombre des mégacaryocytes dans les différents tissus myéloïdes, pouvait être élevé, sans que la courbe des plaquettes se relève — et cela à un moment où l'on avait cessé les injections de saponine depuis 8 ou même 10 jours. C'est ce qu'indique le protocole suivant :

Lapin 52 :

24 octobre 1921 : opéré de splénectomie.

21 janvier 1922 : Poids : 3200 grammes ; 6.120.000 globules rouges et 768.000 plaquettes ; reçoit à partir de cette date pour un motif qui sera exposé plus loin, des injections intrapéritonéales de solution aqueuse de bleu trypan à 1 %; le 11 février, alors que les plaquettes atteignent le chiffre très élevé de 916.000, on lui administre une dose faible de saponine, répétée le 13 février, puis une plus forte dose (15 milligrammes) le 15 février.

Les plaquettes sont tombées à 300.000, puis :

Le 16 février à 214.000 avec 4.712.000 globules rouges.
Le 17 février à 118.000 avec 6.000.000 de globules rouges.
Le 18 février à 44.000 avec 7.088.000 globules rouges.
Le 20 février à 82.000 avec 5.392.000 globules rouges.
Le 22 février à 159.000 avec 4.704.000 globules rouges.

Pendant les derniers jours, les hémorragies produites par les ponctions de l'oreille s'arrêtent vite. Le lapin paraît en assez bonne santé. Il est sacrifié après la dernière numération.

A l'autopsie : Moëlle présentant les lésions ordinaires de nécrose et d'hémorragie.

Métaplasie myéloïde, avec prédominance de mégacaryocytes, dans les ganglions. Quelques mégacaryocytes dans le foie.

Autre exemple :

Lapin 57 :

1er décembre 1921 : Même histoire clinique. La dernière injection de saponine est faite le 18 décembre; l'animal est sacrifié le 23, ne présentant à ce moment que le chiffre peu élevé de 168.000 plaquettes, qui ne s'est plus modifié depuis 5 jours. Pourtant, à l'autopsie, il y a beaucoup de cellules géantes dans la rate et même dans les moëlles osseuses dont les lésions sont peu marquées.

Ce qui se passe, au cours de l'intoxication par la saponine,

paraît par conséquent très comparable aux faits cliniques signalés par GODLEWSKI et par PERRONCITO. On peut se demander si, dans nos expériences, de nouvelles plaquettes n'ont pas été formées par les nombreux mégacaryocytes, mais ont été détruites au fur et à mesure de leur élaboration par le poison non encore éliminé et encore capable de les lyser (1). Une étude cytologique des mégacaryocytes nous permit de répondre à cette question et de vérifier si de tels faits sont en désaccord avec l'hypothèse de WRIGHT.

ETUDE CYTOLOGIQUE DES CELLULES GÉANTES MYÉLOÏDES. LEURS FONCTIONS. COURT HISTORIQUE.

L'attention des hématologistes ne s'est pas portée sur les cellules géantes du tissu myéloïde seulement depuis l'époque (1906-1910) où WRIGHT émit l'hypothèse de leur fonction plaquettogène ; de nombreux auteurs ont étudié leur évolution cytologique et cherché à préciser leurs fonctions. Parmi eux, il faut citer avant tous BIZZOZERO, le premier qui signala leur présence constante dans le tissu myéloïde, VAN DER STRICHT et HEIDENHAIN, qui en précisèrent l'histogénèse, FOA et MAXIMOW, qui attirèrent l'attention sur leurs rapports avec les vaisseaux sanguins, rapports dont WRIGHT et ses partisans soulignèrent toute l'importance.

Un grand nombre d'auteurs eurent l'attention attirée surtout sur la complexité du noyau et cherchèrent à en sérier les différentes formes qu'ils croient être dues à une fragmentation indirecte (FLEMMING, DE MARBAIX, DENIS, CORNIL, HEIDENHAIN, LENGEMAN et TRAMBUSTI).

Plus récemment FERRATA et NEGREIROS-RINALDI (1915) font une étude systématique très complète de l'évolution morphologique des mégacaryocytes chez l'embryon et chez l'adulte ; ils distinguent trois types : 1° *un mégacaryoblaste*, qui correspond au myéloblaste de la série granulocytaire, et

(1) Nous ne savons pas comment la saponine est éliminée de l'organisme ni si son action peut se prolonger encore après sa fixation par les lipoïdes du sang.

qui est une cellule à noyau volumineux nucléolé, un peu déformé et à protoplasme peu abondant ; 2° *un mégacaryocyte lymphoïde*, cellule volumineuse à protoplasme basophile, sans granulations, dont le noyau peut être ou polylobé, ou multiple. Ce noyau se diviserait par mitoses multipolaires. Enfin, ce mégacaryocyte lymphoïde se charge progressivement de granulations d'abord basophiles, puis azurophiles et devient 3° *un mégacaryocyte granuleux*, dont le protoplasme, surtout dans la région périnucléaire, est granuleux et, lorsqu'il est coloré par la méthode de May Grunwald Giemsa, ou tout autre procédé dérivé du Romanowsky, est d'une couleur rose lilas très intense. Ces mégacaryocytes granuleux ne conservent pas la forme globuleuse des précédents, mais ont de véritables prolongements pseudopodiques dans lesquels la portion de protoplasme granuleux se continue.

Les granulations azurophiles, en se groupant en petits amas, deviennent bientôt semblables aux plaquettes que l'on voit sur les frottis de sang (figures de WRIGHT), et des fragments de protoplasme pseudopodique, chargés de ces corps plaquettoïdes (corpi piastrinosimili), pénètrent dans les vaisseaux et sont emportés, comme tels ou déjà fragmentés, dans le torrent sanguin. Le plus souvent, les mégacaryocytes granuleux ont un noyau plus petit qu'au stade précédent, noyau qui montre une tendance à la picnose.

Ces trois types, reconnus par les hématologistes de Naples, caractérisent fort bien l'évolution des cellules géantes de la moëlle, telle qu'elle a été observée, dans ses grandes lignes, par la plupart des auteurs. Certains auteurs récents ont fait une étude détaillée des différentes formes nucléaires sans rien apporter d'essentiel, nous semble-t-il, à notre connaissance de ces éléments (JORDAN). Aujourd'hui, le débat sur les mégacaryocytes s'est porté surtout sur leurs diverses fonctions. Comme il arrive assez fréquemment que des éléments cellulaires sont inclus dans leur protoplasme, on leur a reconnu un rôle *cytophage* et même *macrophage* (ARNOLD, FOA, CESARIS DEMEL, PERRONCITO, REITANO) Cette fonction a été rejetée par HEIDENHAIN, MAXIMOW et tout récemment

Pianese et Jordan. Enfin la fonction plaquettogène, basée surtout sur les « figures de Wright », dont nul ne conteste l'existence, — mais dont l'interprétation est discutée —, est admise par Wright, Ogata, Bunting, Aschoff, Naegeli, Cesaris Demel, Ferrata, Kaznelson, Franck et Reitano — considérée comme probable par Lesourd et Pagniez et rejetée par Winogradow, Foti et surtout récemment par Pianese, Perroncito et von Shilling.

Les problèmes ainsi posés, revenons aux cellules géantes de nos expériences ; nous les avons étudiées sur les coupes et sur les étalements faits entre deux lames par le procédé de Romanowsky.

Il est nécessaire d'employer les deux méthodes, car elles se contrôlent réciproquement. En effet, il est difficile de se rendre compte, sur les coupes,à quels types (mégacaryoblastes, mégacaryocytes lymphoïdes, mégacaryocytes granuleux) on a affaire. Cette distinction est au contraire facile sur les étalements entre deux lames de verre, tels que Ferrata les conseille ; mais les étalements ont pour inconvénient d'exposer à des erreurs lorsqu'on veut se rendre compte des propriétés phagocytaires des cellules en jeu. Nous croyons, en effet, que l'érythrophagie, reconnue par certains auteurs, est basée sur l'examen de semblables étalements, alors que les gobules rouges contenus dans le cytoplasme des mégacaryocytes y ont été imprimés lors de l'étalement. Nous avons failli nous même commettre cette erreur, mais nous sommes convaincus aujourd'hui que l'on ne peut juger de la pénétration naturelle d'éléments cellulaires da nsle protoplasme des cellules géantes, que d'après l'examen des coupes.

Trois lapins ont été sacrifiés avec un chiffre de plaquettes variant de 150.000 à 260.000 alors qu'ils n'avaient plus reçu d'injection depuis un intervalle de 5 à 8 jours. Nous avons déterminé, pour chacun d'eux, sur les frottis, le stade de différenciation de 40 mégacaryocytes, pris, soit dans la moëlle, soit dans la rate, soit même pour le lapin 52 (splenectomisé), dans les ganglions lymphatiques. Nous avons constaté que, pour le lapin 57, sacrifié 6 jours après la dernière

injection, le chiffre des plaquettes étant à ce moment de 168.000, 85 °/₀ des mégacaryocytes comptés étaient au stade lymphoïde ; les autres présentaient dans leur cytoplasme des granulations bleuâtres comme celles représentées sur le dessin 1. Chez le lapin 52, tous les mégacaryocytes étaient au stade lymphoïde, le chiffre des plaquettes à la mort était de 159.000. Chez le lapin 68, sacrifié 5 jours après la dernière injection, 95 % de mégacaryocytes reconnaissables sur les frottis étaient au stade lymphoïde, 5 %, soit 2 mégacaryocytes, contenaient des granulations azurophiles. Sur aucun des mégacaryocytes des trois lapins nous n'avons vu des figures de Wright. Nous pouvons en conclure, à moins d'admettre que la filiation des stades décrits par Ferrata soit inexacte, qu'*aucun mégacaryocyte de nos trois lapins injectés de saponine, n'était arrivé au terme de son évolution* 6 *à* 10 *jours après la dernière injection et n'avait atteint le stade considéré par* Wright *et ses partisans comme plaquettogène.*

Nous pouvons appliquer la même conclusion aux observations cliniques, dans lesquelles on a constaté beaucoup de mégacaryocytes dans les tissus et peu de plaquettes dans le sang. Ces observations ne peuvent servir comme arguments contre l'hypothèse de Wright, car, ainsi que cela se passe pour la saponine, il peut exister un facteur qui retarde l'évolution cytologique des cellules géantes et les maintienne notamment au stade lymphoïde.

Si dans nos lapins intoxiqués par la saponine, les mégacaryocytes sont au stade lymphoïde lorsqu'il n'y a pas de régénération de plaquettes, par contre, lorsque le chiffre des plaquettes du sang périphérique est élevé, la majorité des mégacaryocytes est au stade à grains azurophiles. C'est ce que montre l'observation suivante :

Lapin 63 :

14 janvier 1922 : poids 2,400 kgs.
480.000 plaquettes, 5.660. 000 globules rouges.
Il reçoit 4 milligrammes de saponine dans 4 cc. de liquide physiologique.
16 janvier : le chiffre des plaquettes est de 472.000 et celui des

globules rouges de 5.100.000, après quoi le lapin reçoit à nouveau 4 milligrammes de saponine.

17 janvier : on trouve 324.000 plaquettes et 4.290.000 globules rouges.

18 janvier : 474.000 plaquettes et 4.700.000 globules rouges.

A l'autopsie, on ne constate pas de lésions marquées de la moëlle, 72,5 % de mégacaryocytes, soit 29 sur 40 des mégacaryocytes médullaires, sont chargés de granulations azurophiles, et sont donc en fonction plaquettogène. Il n'y a pas eu de métaplasie mégacaryocytaire de la rate : dans ce cas, l'intoxication par la saponine a été trop brève et la moëlle osseuse a suffi pour réparer les pertes causées par le poison ; c'est pourquoi aussi les mégacaryocytes de cette moëlle sont tous au stade plaquettogène.

Dans nos expériences, beaucoup de mégacaryocytes, retardés dans leur évolution, contenaient dans leur protoplasme un ou plusieurs leucocytes polynucléaires pseudo-éosinophiles.

La présence de cellules englobées par les mégacaryocytes a été signalée par plusieurs auteurs. (Denis, Pianese, Ferrata, Reitano) et a été considérée, par la plupart d'entre eux, comme l'indice de leur fonction macrophage.

En réalité, il y a lieu d'éclaircir ce problème et de savoir notamment si le rôle cytophage de cellules, dont le protoplasme est si abondant, suffit à expliquer leur présence dans le tissu myéloïde. Perroncito, en développant cette idée, s'en sert indirectement pour nier la fonction plaquettogène des cellules géantes.

Reitano reprit la question tout récemment et fit 'exposé des opinions de ses devanciers. Ses propres observations ont porté sur le matériel déjà fixé et coloré, qui avait servi à Ferrata et Negreiros Rinaldi pour leur belle étude cytologique de la cellule de Bizzozero. Reitano, ayant vu, dans le protoplasme des cellules géantes, des globules rouges bien conservés, admet qu'au moins « i megacariociti linfoidi si comportano come tipici erytrofagi, constatazione facile a controllare provocando anemie emolitiche » (page 389) ; et ses figures représentent en effet des globules rouges englobés dans le protoplasme cellulaire.

On est frappé par le bon état de conservation des éléments englobés et par l'abondance des normoblastes. Nous basant sur notre propre expérience, nous nous demandons si les images ne sont pas des artefacts de préparation, tels qu'en montrent si souvent les frottis. Nous n'avons nous mêmes vu que tout à fait exceptionnellement, sur les coupes, des images qui avaient fait admettre par REITANO une fonction érythrophage, alors que nous étions dans les conditions soi-disant favorables pour les voir. Il faudrait bien admettre que, si cette fonction existait, le mégacaryocyte serait capable d'assimiler les globules rouges d'une manière toute différente de celle des macrophages ordinaires, car on n'y reconnaît pas les images morphologiques des pigments dérivés de l'hémoglobine (hématine, hémosidérine). Alors que la rate de beaucoup de nos lapins contenait un nombre parfois énorme de macrophages chargés de pigment, qui donnait la réaction microchimique du fer (réaction de HUECK) jamais, sur les mêmes rates, les mégacaryocytes n'en contenaient.

Quant à la présence de leucocytes dans le protoplasme des mégacaryocytes, démontrée par la plupart de nos microphotographies, présence exceptionnelle dans le matériel dont disposait REITANO, très fréquente dans le nôtre, comment faut-il l'interpréter ? Beaucoup d'auteurs, notamment ARNOLD, FOA, CESARIS DEMEL, SAPEGNO et PERRONCITO y voient l'indice de la fonction phagocytaire des mégacaryocytes. PIANESE met en doute cette fonction en invoquant : 1° l'absence d'hématies ou de leurs résidus dans le cytoplasme ; 2° le grand nombre de leucocytes bien conservés allant de pair souvent avec des altérations nucléaires de la cellule envahie.

Nous partageons entièrement l'opinion de PIANESE quant à l'interprétation donnée à ces images. Les mégacaryocytes, arrêtés dans leur évolution et incapables de devenir des mégacaryocytes à grains azurophiles, sont envahis par des leucocytes polynucléaires à granulations pseudoéosinophiles. Tous les hématologistes admettent que les leucocytes à granulations pseudoéosinophiles ou amphophiles du lapin et du

cobaye correspondent en réalité aux leucocytes à granulations neutrophiles du sang humain, dont on connaît le pouvoir protéolytique. Cette raison suffirait à faire penser, à priori, lorsqu'on voit des leucocytes enclavés dans le protoplasme d'une cellule géante et qu'ils sont en bon état de conservation, que ce sont eux, et non la cellule qui les contient, qui sont les éléments destructeurs.

En fait cette impression est plus nette encore quand, au lieu d'un ou deux de ces leucocytes, on en voit parfois dix ou vingt dans la même cellule ou que l'on voit des mégacaryocytes, dont le noyau présente des restes à peine reconnaissables, transformés en véritables kystes bourrés de leucocytes (fig. 2). Des images analogues avaient déjà été signalées par Denys, avant que la filiation exacte des cellules de la moelle fut établie. Le cytologiste belge croyait que les mégacaryocytes avaient un pouvoir hématogène et qu'ils constituaient le berceau des cellules sanguines, opinion soutenue aussi par Foa anciennement et aujourd'hui abandonnée par tout le monde, malgré les recherches récentes de Jordan, qui a cru pouvoir la remettre en honneur.

Nous avions acquis à la suite de l'examen de nos coupes, la conviction *que seuls les leucocytes sont englobés in vivo dans le protoplasme des cellules géantes et qu'ils y exercent leur pouvoir protéolytique qui peu à peu désagrège la cellule. Comme tous les mégacaryocytes ainsi envahis sont au stade lymphoïde de* Ferrata, *aucun d'entre eux n'a l'occasion d'exercer la fonction plaquettogène et la régénération des plaquettes en est par conséquent retardée.* Les mégacaryocytes n'exercent pas de fonction macrophage.

On pourrait nous reprocher de n'être arrivé à la première partie de cette conclusion qu'en interprétant des images histologiques, vues aussi par d'autres auteurs qui en avaient donné une interprétation différente. Nous avons procédé avec le bleu trypan, colorant vital non toxique, à une série d'expériences, qui nous permettent de rejeter, en nous basant sur des faits expérimentaux positifs, la prétendue fonction phagocytaire des cellules géantes de la moëlle.

Expériences in vivo avec le trypan bleu. — Les travaux de BOUFFARD, puis ceux de GOLDMANN, SCHULEMANN, EVANS et SCHULEMANN, FERRATA, SAGONA et d'autres ont établi que l'orsqu'on injecte dans l'organisme un colorant du groupe de la benzidine, ce colorant s'accumule dans les tissus, sans guère changer sa composition chimique (au moins le radical chromogène). Ces colorants se déposent dans un certain nombre de cellules qui sont toutes douées de propriétés phagocytaires. La réaction de ces cellules à ces colorants vitaux est aujourd'hui fréquemment employée en histologie comme un moyen de diagnostic entre des cellules que leurs particularités morphologiques, au moins sur les tissus fixés, ne permettent pas de distinguer; — ainsi par exemple les clasmatocytes et les fibroblastes du tissu conjonctif (EVANS et SCHOTT). Les cellules dans lesquelles ces colorants s'accumulent, lorsqu'ils sont introduits à des doses suffisantes dans l'organisme, sont les clasmatocytes du tissu conjonctif, les cellules endothéliales douées de pouvoir phagocytaire (endothélium des sinus veineux de la rate, des sinus des ganglions lymphatiques, cellules de KUPFFER du foie, endothélium des capillaires de la moelle), les cellules de la pulpe de la rate. Pour que cette accumulation cellulaire se fasse, il faut que le colorant dont, à cause de son état colloïdal, la diffusibilité est réduite, arrive en quantité suffisante au contact de la cellule douée du pouvoir phagocytaire. C'est pourquoi, lorsqu'il est introduit dans le péritoine, il est repris et fixé, avant de passer dans la circulation générale, par les nombreux macrophages libres dans la cavité péritonéale et par les clasmatocytes du grand épiploon et du tissu cellulaire sous péritonéal ; injecté sous la peau, il s'accumule dans les grands macrophages du derme ou du tissu sous cutané accourus autour du foyer d'injection ; injecté dans les veines, il est fixé par les éléments endothéliaux phagocytaires, et par les cellules de la pulpe splénique si les doses injectées sont suffisantes.

Nous nous sommes servis de ces données, aujourd'hui établies, pour éprouver le pouvoir phagocytaire des méga-

caryocytes, dont nous avions provoqué l'élaboration dans la rate par l'injection de petites doses de saponine.

Lapin 68:

26 février 1922. Poids : 2450 grammes. 6.500.000 globules rouges; 600.000 plaquettes.

27 février : Injection de 4 milligrammes de saponine dans 4 cc. de liquide physiologique.

1 et 2 mars : même injection.

4 mars : 5.472.000 globules rouges ; 472.000 plaquettes.

(18 h. 30) injection intraveineuse d'une solution aqueuse de bleu trypan à 1 %.

(19 h. 30) injection intraveineuse de 10 milligrammes de saponine dans 5 cc. de liquide physiologique.

6 mars : 6.360.000 globules rouges ; 456.000 plaquettes.

(16 h.) injection intraveineuse d'une solution à 1 % de bleu trypan.

(18 h. 30) injection intraveineuse de 10 milligrammes de saponine dans 5 cc. de liquide physiologique.

8 mars : 7.200.000 globules rouges ; 394.000 plaquettes. Injection intraveineuse de 10 milligrammes de saponine dans 5 cc. de liquide physiologique.

10 mars : 5.448.000 globules rouges ; 231.000 plaquettes. Injection intraveineuse de 20 cc. de trypan bleu à 1 %.

13 mars : 6.224.000 globules rouges ; 267.000 plaquettes.

En résumé, traitement à la saponine par petites doses d'abord, doses plus fortes ensuite ; en même temps, injection de bleu trypan dans les veines, afin de mettre en évidence les propriétés phagocytaires de certains éléments endothéliaux et conjonctifs que le colorant vital touche.

A l'autopsie : les reins sont assez chargés de bleu ; l'élimination du bleu, rendu au sang circulant par les éléments qui l'avaient ségrégué, est en voie de se faire. La rate et le foie sont assez colorés ; la moëlle des os beaucoup moins ; les poumons et le grand épiploon, presque pas.

Les différents organes sont fixés au Dominici, au Helly et au formol. Ces derniers fragments sont coupés au microtome à congélation ou en paraffine ; le bleu vital n'est guère modifié par ces manipulations.

Il y a beaucoup de mégacaryocytes dans la pulpe de la rate et beaucoup d'amas de pigment collectés dans de grands éléments macrophages, lesquels ont collecté aussi, dans leurs vacuoles, des masses de colorants. Les petites cellules de la pulpe splénique ont aussi fixé le colorant dans leur corps cytoplasmique, tandis que les lymphocytes des corpuscules n'en ont pas fixé. Beaucoup de mégacaryocytes sont altérés ; leur noyau se colore moins que celui des cellules voisines ou bien il est fragmenté, rappelant la karyorexis. Dans leur cytoplasme, on rencontre fréquemment un ou plusieurs globules blancs ; aucun mégacargocyte n'a « phagocyté » de bleu trypan, malgré l'occasion qu'ils avaient de le faire. Aucune cellule douée de pouvoir phagocytaire ne se serait comportée comme eux. Les frottis montrent que presque tous ces mégacaryocytes sont au stade lymphoïde. Nous en concluons que *les mégacaryocytes n'ont pas la faculté de phagocyter des gouttelettes de bleu trypan, même lorsqu'ils sont au stade lymphoïde et que le colorant arrive à leur contact, ce qui les distingue de toutes les cellules de l'organisme douées d'un pouvoir phagocytaire.* (1).

Cette démonstration, pour avoir sa pleine valeur, ne pouvait être faite que sur des cellules géantes situées dans la rate, parce que la rareté des éléments de la moëlle qui fixent le bleu vital aurait pu faire croire que si les mégacaryocytes ne collectaient pas de colorant, c'est parce que la trop faible diffusibilité de celui-ci ne lui avait pas permis d'arriver jusqu'à eux.

* * *

Dans l'ensemble, nous avons expliqué pourquoi le nombre des plaquettes ne se relevait pas rapidement après l'intoxi-

(1) DOWNEY a montré que si les leucocytes polynucléaires du sang circulant n'étaient pas chargés des colorants de benzidine, comme l'avaient cru EVANS et SCHULEMANN, c'est parce que l'accolement des particules colloïdales du colorant à leur surface ne pouvait se faire dans le sang circulant. Sur du sang stagnant dans un vaisseau entre deux ligatures, ils prennent parfaitement le colorant.

cation par la saponine, malgré le grand nombre des mégacaryocytes présents. BUNTING avait déjà constaté que le chiffre des plaquettes n'arrivait à la normale qu'au bout de 15 jours et cela, croyait-il, en raison de l'altération de la moëlle. Nous croyons qu'il y a un facteur qui empêche l'évolution complète des mégacaryocytes jusqu'au stade qui leur permet d'élaborer des plaquettes. La plupart de ces mégacaryocytes, arrêtés dans leur évolution, sont envahis par des leucocytes et dégénèrent. Les mégacaryocytes n'ont pas de propriété macrophage et ne sont pas doués de pouvoir phagocytaire. *Toute l'étude de l'intoxication par la saponine est en faveur de la doctrine de* WRIGHT, *mais il y a lieu de noter que la différenciation complète d'un mégacaryocyte peut subir des entraves ou même être complètement arrêtée.*

Sans vouloir trop nous étendre sur la conception de FRANCK, au sujet du rôle inhibiteur de la rate, dans certains syndromes hémorragiques guéris par la splénectomie, il y aurait lieu, pour en établir la valeur, de rechercher par des observations cliniques et anatomopathologiques, s'il n'existe pas une évolution des mégacaryocytes parallèle à celle que la saponine nous a montrée.

CHAPITRE III.

Régénération des plaquettes après défibrination du sang (1)

Les conclusions auxquelles nous venons d'aboutir touchant la régénération des plaquettes dans l'intoxication par la saponine devaient subir le contrôle d'expériences dans lesquelles la diminution des plaquettes du sang périphérique avait été obtenue par un autre moyen. Nous avons procédé pour cela, sur cinq lapins, à la défibrination aussi complète que possible du sang. DUKE avait montré, en effet, que lorsqu'on enlève à plusieurs reprises à un chien de petites quantités de sang et qu'on les lui réinjecte ensuite, chaque fois, après l'avoir défibriné et filtré, on réinjecte du sang privé de plaquettes, car celles-ci sont retenues sur les travées de fibrine. Au bout d'un certain nombre de saignées et de réinjections de cette nature, non seulement le sang de l'animal est défibriné, mais il est aussi presque totalement dénué de ses plaquettes. Nous avons procédé de même chez le lapin et nous avons établi, après cela, la courbe de réé-gén ration des plaquettes et l'évolution cytologique des cellules géantes de la moelle et des autres organes où elles auraient pu se différencier. Ce procédé a l'avantage de ne pas exiger que l'on fasse une étude préalable des facteurs qui, en dehors du mécanisme de régénération, font varier le nombre des plaquettes du sang périphérique.

Nous n'avons pourtant pas obtenu par ce moyen une diminution des plaquettes aussi considérable que celle obtenue par DUKE chez le chien. L'auteur américain a procédé par deux

(1) La plupart des expériences dont il est question dans ce chapitre ont été faites dans le laboratoire de notre ami le Prof. Henri Frédéricq à l'Institut Léon Frédéricq. Nous le remercions vivement de son bienveillant accueil.

fois à une défibrination totale du sang du chien en enlevant dans un cas, à dix reprises différentes, des quantités de sang égales à environ 35 % de la masse totale, l'autre fois, à six reprises environ 44 %. Ces opérations ont pu être faites dans un intervalle de 4 heures. Jamais, nous ne nous sommes trouvés dans des conditions aussi favorables chez le lapin. Convaincu par les recherches de Zunz et Govaerts, que nous ne pouvions dépasser, pour une saignée, le chiffre de 25 % de la masse totale, nous devions répéter nos saignées souvent, mais cela ne pouvait être fait sans danger pour le lapin si les intervalles entre les saignées étaient courts. Il faut d'ailleurs remarquer que si l'on fait une saignée moins d'une demi-heure après la fin de l'injection, l'animal se trouve à l'état de choc et les plaquettes ne sont pas toutes libres dans le sang circulant et par conséquent, on enlève du sang dénué de plaquettes, ce qui est contraire au but cherché. D'autre part, on ne peut, sans préjudice, maintenir le lapin sur la table tout le temps qu'il faut pour accomplir ces opérations.

Etant donné ces écueils, nous n'avons pu obtenir la plus grande réduction du chiffre des plaquettes qu'en répartissant nos saignées et réinjections sur 24 heures et nous avons fait la numération des plaquettes, qui devait nous donner le résultat final de l'expérience , au minimum une heure après la dernière injection de sang défibriné.

Perroncito a procédé aussi dans le but de débarrasser le sang de ses plaquettes, à la défibrination du sang de lapin. Il ne signale aucune des difficultés qui nous ont arrêté ; mais il ne donne ni la durée de ses expériences de défibrination, ni le résultat et le moment de ses numérations de plaquettes.

D'après les deux protocoles suivants, on se rendra compte de la rapidité avec laquelle le lapin est capable de régénérer ses plaquettes.

Lapin 64 :

6 février 1922. 3200 grammes. 4.255.000 globules rouges ; 550.000 plaquettes

(12 h.) saignée à la carotide de 40 cc. de sang ; défibrination ; réinjection dans la jugulaire.

(18 h.) même opération.

7 février : mêmes opérations à 11 h., à 15 h., à 19 h.

(21 h.) 2.428.000 globules rouges ; 159.000 plaquettes.

8 février : 2.550.000 globules rouges ; 200.000 plaquettes.

10 février : 2.912.000 globules rouges ; 528.000 plaquettes.

11 février : 3.400.000 globules rouges ; 732.000 plaquettes.

Le lapin avait perdu beaucoup de sang au moment de l'opération, mais était en très bonne condition lorsqu'il fut sacrifié. On voit que la régénération des plaquettes est achevée en trois jours et qu'elle est plus rapide que celle des globules rouges — à l'inverse de ce qui se produit dans l'intoxication par la saponine.

Lapin 70 :

13 mars 1922. Poids 2850 grammes ; 6.355.000 globules rouges ; 610.000 plaquettes.

(9 h. 35) saignée de 52 cc. à la carotide ; défibrination ; réinjection du sang filtré dans la jugulaire.

11 h. Deuxième saignée de 30 cc. à la carotide ; défibrination ; réinjection.

(16 h. 33) troisième saignée de 46 cc. à la carotide; défibrination; réinjection.

(20 h. 33) même chose pour 40 cc.

14 mars 1922 (8.50 h.) même chose pour 40 cc. Réinjection du sang additionné de liquide physiologique.

Dans l'ensemble, le lapin a été saigné 5 fois en 24 heures de 208 grammes, soit une fois la totalité de son sang. Le chiffre des plaquettes mesuré avant la dernière saignée (méthode Aynaud), est de 260.000 ; celui des globules rouges de 4.616.000.

(16 h.) (méth. de Pagniez et Mouzon) 4.432.000 globules rouges; 131.000 plaquettes, dont quelques-unes ont la taille de petites hématies.

15 mars : 3.760.000 globules rouges ; 226.000 plaquettes.

La chute des globules rouges s'explique par le fait que beaucoup d'hématies, probablement altérées par la défibrination, sont retenues au niveau de la rate, ainsi que le montreront plus tard les coupes de cet organe.

16 mars (11 h.) 4.416.000 globules rouges ; 450.000 plaquettes.

(17 h.) 4.500.000 globules rouges ; 710.000 plaquettes.

(19 h.) le lapin, en excellente condition, est sacrifié.

Ces deux expériences sont absolument concordantes ; *elles montrent que lorsque le nombre des plaquettes du sang circulant a été diminué par défibrination du sang, ce nombre est déjà revenu à la normale le troisième jour et que l'effort de régénération se poursuivant, après ce délai, le nombre des plaquettes dépasse la normale.*

Ces résultats, obtenus chez le lapin, sont très parallèles aux résultats obtenus par DUKE chez le chien ; le taux de régénération paraît encore plus rapide chez le premier animal.

Si alors nous examinons les coupes des organes hématopoïétiques et les frottis, nous constatons :

Dans la rate, un nombre énorme de macrophages chargés de pigment.

Dans un des deux lapins (64), métaplasie myéloïde de la rate, ce qui est probablement dû à la perte de sang considérable subie par l'animal lors de la défibrination. La moëlle osseuse est légèrement hyperplastique dans les deux cas. Le nombre des mégacaryocytes y est élevé, mais il est difficile de dire s'il dépasse la normale.

Environ 65 % de ces cellules géantes sont, sur les frottis, au stade de mégacaryocytes à grains azurophiles, et à noyau picnotique. Sur les coupes, on recherche si certains mégacaryocytes contiennent dans leur protoplasme des leucocytes polynucléaires. De telles images existent, mais elles sont exceptionnelles, tandis qu'elles étaient extrêmement abondantes au cours de l'intoxication par la saponine.

Enfin, il existe des figures de WRIGHT, mais pas en grand nombre.

Si l'on compare ces observations avec celles obtenues chez le même animal, après injection de saponine, on voit que dans le premier cas, il y a régénération très rapide de plaquettes (en trois jours), et de nombreux mégacaryocytes granuleux, donc capables d'élaborer des plaquettes. Dans le second cas, il existe toute une période où la courbe des plaquettes ne se relève pas (au moins 8 jours), malgré l'interruption des injections de poison et où l'évolution cytologique des mégacaryocytes est arrêtée au stade lymphoïde, stade auquel la

plupart d'entre eux sont envahis par des leucocytes et dégénèrent.

Ces observations viennent à l'appui de la doctrine de WRIGHT, *basée sur des images histologiques dont la réalité est incontestée.*

Notons encore que les frottis de sang de tous les lapins dont le sang venait d'être défibriné, présentaient dès les premières 24 heures, un grand nombre de plaquettes à dimensions géantes, ainsi qu'on les voit, quelquefois, individualisées dans le cytoplasme de cellules géantes à grains azurophiles, c'est-à-dire de mégacaryocytes complètement évolués.

CHAPITRE IV.

Autres mécanismes de régénération de plaquettes

Nos recherches nous ont conduit à admettre l'hypothèse de WRIGHT, sur le rôle joué par les mégacaryocytes et ont contribué à sa démonstration. Nous avons dit que beaucoup d'hématologistes ont accepté cette opinion lorsqu'ils virent les images de WRIGHT. Un certain nombre d'entre eux admettent que, outre les mégacaryocytes, des cellules monocytoïdes, qui exercent normalement dans l'organisme une fonction macrophage, peuvent également dans certaines conditions, élaborer des plaquettes. Cette opinion a été développée surtout par FERRATA.

On sait que le terme de monocyte, aujourd'hui généralement employé en hématologie, a été employé pour la première fois par NAEGELI, pour désigner certaines cellules du sang circulant, qui rentrent dans le groupe des grands mononucléaires et des cellules de transition d'EHRLICH. NAEGELI les caractérisa par leurs grandes dimensions, l'aspect pâle et légèrement irrégulier de leur noyau, les limites peu nettes et la basophilie peu intense de leur protoplasme. Il y trouva une granulation métachromatique qu'il distingua des grains azurophiles et des grains neutrophiles. ASSCHOFF et KIYONO rattachent, sur une base physiologique, le groupe des monocytes à un type spécial de cellules conjonctives, individualisées surtout par MAXIMOW : les clasmatocytes. (cellules connectives rhagiocrines de RENAUT, cellules adventitielles de MARCHAND, hémohistioblastes de FERRATA). En effet, les travaux de MAXIMOW, BOUFFARD, EVANS, SCHULEMANN et d'autres avaient montré que le clasmatocyte est la cellule du tissu conjonctif la mieux différenciée pour la fonction

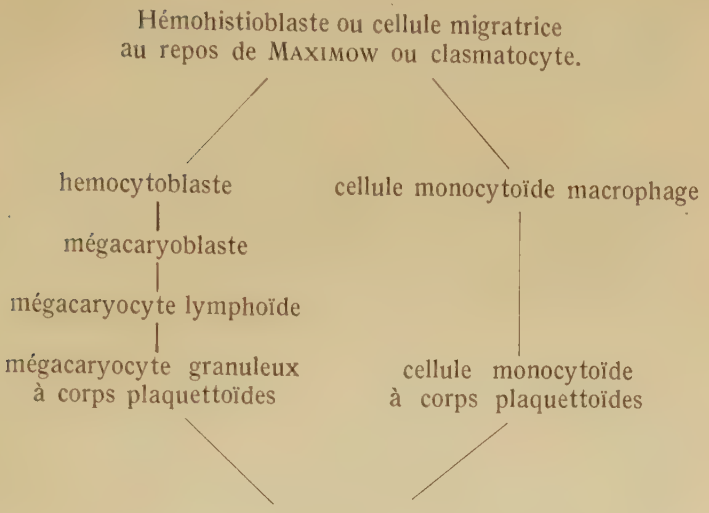
macrophage. Cette cellule se meut lentement par un mécanisme différent des mouvements amoeboïdes des leucocytes polynucléaires ; elle présente vis-à-vis des colorants vitaux (rouge neutre) ou des colorants du groupe de la benzidine, un mode de réaction qui lui est particulier : le rouge neutre colore certaines sphérules fluides, sortes de vacuoles sans doute préformées ; les colorants du groupe de la benzidine et toute particule solide de petites dimensions sont phagocytés par ces cellules et se collectent, comme tels, dans les vacuoles, de telle façon que des suspensions fines s'y agglomèrent en gros amas, bien visibles au microscope. Asschoff et Kiyono ont reconnu que les monocytes de Naegeli présentaient vis-à-vis des colorants vitaux une réaction identique ; ils groupèrent l'ensemble desclasmatocytes et des monocytes sous le nom d'histiocytes, auxquels ils attribuèrent une origine endothéliale. Ils soulignent la distinction qu'il y a lieu de faire, physiologiquement, entre histiocytes et lymphocytes d'une part, histiocytes et leucocytes granuleux d'autre part, les monocytes du sang humain, coloré par la méthode vitale de Pappenheim, Simpson fut à même de démontrer l'existence, (dans les monocytes du sang,) d'une vacuole analogue aux vacuoles ou appareils de ségrégation des clasmatocytes, et donna ainsi un argument morphologique nouveau à la conception d'Asschoff.

Notre ancien maître Miss Sabin, l'établit définitivement sur une base embryologique par les observations qu'elle fit, l'été dernier, sur l'embryon de poulet in vivo : monocytes du sang circulant et clasmatocytes du tissu conjonctif s'élaborent tous deux, chez l'embryon, au même moment, aux dépens du même endothélium vasculaire. On peut voir — et je l'ai vu —, sous le microscope, l'endothélium des capillaires ou des veines d'un embryon de poulet du 3e jour, se dédoubler et donner naissance, à l'extérieur, à une cellule vacuolée, dont le protoplasme superficiel très mince est en mouvement continuel ; cette cellule se détache de l'endothélium et se meut alors lentement dans les tissus ; ses vacuoles sont colo-

rées par le rougeneutre en dilution très faible, 1/10.000, alors que les autres cellules de l'embryon ne sont pas colorées ; au même moment, une cellule, présentant les mêmes caractères, se détache de l'endothélium du côté interne et tombe dans la cavité vasculaire ; le monocyte est né et différencié presque aussitôt, et cela à un stade où aucun leucocyte granuleux n'est encore formé.

L'identité, ou du moins la relation intime entre monocytes du sang et clasmatocytes étant soulignée, voyons la théorie de FERRATA. Pour lui, ces cellules ne présentent pas durant toute leur évolution, une fonction macrophage; il les considère comme des éléments aux dépens desquels peuvent se différencier toutes les cellules du tissu conjonctif et, dans des conditions spéciales, les cellules du sang. Il a observé que la cellule ancestrale myéloïde ou lymphoïde, (l'hémocytoblaste ou le lymphoïdocyte de PAPPENHEIM) se différencie, au cours de la période embryonnaire, aux dépens d'une cellule mésenchymatique à pouvoir phagocytaire, facile à mettre en évidence par des colorants vitaux, l'hémohistioblaste (clasmatocyte) ; mais, chez l'adulte, cette dernière conserverait des potentialités hématogènes qui, dans certaines circonstances, pathologiques ou non, peuvent s'épanouir. Cette théorie permet de comprendre certains faits pathologiques, notamment la part active du tissu conjonctif dans l'élaboration de cellules sanguines ainsi que cela semble avoir lieu dans les leucémies.

FERRATA est d'autre part un des partisans les plus convaincus de la théorie de WRIGHT. Il a observé que, chez l'embryon, des cellules monocytoïdes macrophages présentaient dans leur protoplasme des corps plaquettoïdes semblables à ceux des figures de WRIGHT et il a conçu pour l'origine des plaquettes un mécanisme qui peut se traduire par le schéma suivant :



Cesaris Demel s'est rallié à cette conception. Or différents auteurs ont décrit, chez l'adulte, dans des cellules mononucléées lymphoïdes, des images qui seraient semblables aux figures de Wright ; ces observations tendent à soutenir la théorie de Ferrata (Brown, Klein, Bunting). L'intérêt du schéma de Ferrata n'est pas seulement théorique. Il est certain que si d'autres éléments que les mécacaryocytes myéloïdes, beaucoup moins différenciés et répartis presque partout dans l'organisme, sont capables d'élaborer des plaquettes, il deviendra illusoire de localiser au seul tissu myéloïde la lésion responsable dans les états de thrombopénie dus à un manque de production de plaquettes; sans grande valeur aussi seraient les observations, cliniques ou expérimentales, qui tendent à faire dépendre le nombre des plaquettes du nombre et de la différenciation des mégacaryocytes. Si la théorie de Ferrata est exacte et s'il existe, comme le croit Franck, des facteurs inhibiteurs de l'évolution des mégacaryocytes, il faut admettre que l'influence de ces facteurs doit être très généralement distribuée dans l'organisme. Il y a donc lieu de chercher à connaître la valeur de l'hypothèse de Ferrata.

Nous avons fait nous mêmes une observation qui, à première vue, semble d'accord avec elle.

Lapin 57 :

A été injecté le 8, le 9 et le 13 décembre 1921, dans le péritoine, de 5 centigrammes de bleu trypan en solution à 1 %.

13 décembre : il a 6.350.000 globules rouges et 668.000 plaquettes

Son sang est morphologiquement normal. Il reçoit après cela 4,5 milligrammes de saponine dans les veines.

15 décembre : il a 5.384.000 globules rouges et 606.000 plaquettes.

Son sang montre un petit nombre d'hématies nucléées et un nombre légèrement accru, (12 % de la totalité des leucocytes,) de monocytes. Il reçoit après cela 4 milligrammes de saponine et, dans le péritoine, 6 centigrammes de bleu trypan.

16 décembre : l'examen de son sang est très particulier ; la numération des globules n'a pas été faite ; celle des plaquettes, en raison du grand nombre d'amas de plaquettes, malgré les précautions de technique, ne fut pas possible.

Le sang montre un nombre considérable (environ 35 % de la totalité des leucocytes) de cellules monocytoïdes (voir fig. 5, 6, 7, 8). Ces cellules ont un protoplasme basophile, légèrement fibrillaire, à limites peu nettes, parfois vacuoleux. Le noyau n'est pas régulièrement arrondi, mais présente le plus souvent une ou deux incisions profondes. La chromatine est également répartie et a un aspect un peu poussiéreux ; dans certains noyaux, on croit voir un nucléole, pourtant mal limité. Ces cellules ont bien l'aspect des monocytes que Ferrata représente dans les planches de son dernier article sur les monocytes de la rate malarique. Elles ressemblent en outre aux grands macrophages de la pulpe splénique. Certaines d'entre elles ont leur protoplasme entièrement ou partiellement bourré de plaquettes sanguines (Fig. 5 et 6). D'autres cellules sont chargées de grains azurophiles inégalement répartis. Ces grains ne sont pas, comme ceux des mégacaryocytes, répartis seulement autour du noyau et n'ont ni la même régularité, ni le même éclat.

L'interprétation de telles images n'est pas facile, mais il

est certain qu'il s'agit de cellules monocytoïdes. C'est, croyons-nous, devant de semblables images (1) que BUNTING s'est cru autorisé à admettre une formation vicariante de plaquettes dans un cas d'influenza, maladie dans laquelle il y a thrombopénie (KINZELLA et BROWN).

Nous croyons qu'il s'agit plutôt là de figures de plaquettophagie, figures de destruction de plaquettes. En réalité, le lapin 57 n'avait au moment de l'examen de sang, pas reçu suffisamment de saponine pour produire une grande diminution du chiffre des plaquettes périphériques. D'autre part, les injections de bleu trypan favorisent la libération, dans le sang circulant, de monocytes macrophages, précédemment fixes au niveau de la rate ou des ganglions. Il est possible que nous ayons assisté à une phagocytose abondante de plaquettes par les macrophages endothéliaux, plaquettes altérées, mais pas suffisamment imprégnées de saponine pour être lysées. Quoi qu'il en soit, si l'on compare les figures 5 et 6 à la fig. 2, on constatera que le protoplasme du mégacaryocyte en voie de formation de plaquettes a un aspect bien différent de celui des monocytes.

Notre étude sur le rôle joué par les mégacaryocytes dans la régénération des plaquettes, nous a montré qu'ils ne sont capables de différencier ces dernières qu'à la suite d'une phase critique, au cours de laquelle ils succombent souvent. Tout porte à croire, comme le signale aussi DOWNEY, que l'azurophilie de leur protoplasme ne peut apparaître qu'à la suite d'échanges entre la chromatine nucléaire et le protoplasme, et que ce sont ces échanges mêmes qui sont les raisons de la complexité et de la diversité de forme des noyaux des mégacaryocytes. Toutes les analyses chimiques, faites sur les plaquettes, ont montré leur richesse en nucléoprotéides, propriété qui rend leur structure et leurs caractères histologiques si voisins de la substance nucléaire. Il est diffi-

(1) Les figures qui accompagnent le texte de BUNTING se prêtent pourtant mal à un contrôle, car elles ne réflètent sûrement pas l'aspect exact de cellules sanguines sur les frottis de sang colorés.

cile d'imaginer que des cellules qui, comme les monocytes, ne présentent pas de transformations nucléaires complexes (caractéristique des mégacaryocytes), puissent à un moment donné, au cours de leur évolution, faire apparaître dans leur protoplasme des éléments à composition chimique très voisine de la chromatine.

Quand nous examinons les figures de la planche nº 6, de FERRATA et NEGREIROS RINALDI, nous ne pouvons leur reconnaître la même valeur démonstrative qu'à celles des planches précédentes ; c'est par cette planche nº 6, que les auteurs ont cru faire la démonstration de l'élaboration des plaquettes par des cellules monocytoïdes de l'embryon.

Les images que nous avons figurées rappellent celles de BERNHARDT. Cet auteur constata une destruction exagérée de plaquettes dans certains états infectieux (scarlatine) et considère les cellules décrites comme des macrophages ayant phagocyté des plaquettes. Plus tard, KAZNELSON paraît avoir observé la même chose dans des cas de fièvre typhoïde et purpura, et cela lui fait admettre que la thrombopénie, qui caractérise certains syndromes purpuriques, est le résultat d'une thrombocytolyse par la rate ou par le tissu endothélio-réticulé. Les observations relatées dans ce mémoire ne nous permettent pas encore d'émettre une opinion sur la question de la destruction normale ou pathologique des plaquettes, les moyens expérimentaux que nous avons employés pour réduire le nombre des plaquettes étant évidemment différents de tout processus physiologique normal (1).

En résumé, celles de nos observations qui paraissaient soutenir l'opinion de FERRATA, concernant l'origine des

(1) Jusqu'ici, l'hypothèse de la destruction des plaquettes par la rate ou le tissu endothélioréticulé ne paraît pas avoir reçu une attention ni un contrôle suffisants. Dans cet ordre d'idées, nous pouvons affirmer seulement que, contrairement à ce qu'a vu AYNAUD et conformément aux observations de PORT et AYAMA, les lapins splénectomisés présentent un chiffre de plaquettes plus élevé que les lapins normaux. Alors que chez ces derniers, notre chiffre moyen est de 570.000, nous avons constaté chez deux lapins splénectomisés : 708.000 plaquettes, 30 jours après l'opération, pour le lapin 53. 768.000 plaquettes, et 916.000, 86 et 106 jours après l'opération pour le lapin 52.

plaquettes aux dépens de monocytes sont susceptibles d'une autre interprétation, qui semble plus plausible. La théorie de FERRATA est peu probable et en tous cas non démontrée.

CRITIQUE DES TRAVAUX RÉCENTS REJETANT LA THÉORIE DE WRIGHT

D'excellents exposés récents donnant l'historique de la question de l'origine des plaquettes ont été faits par FERRATA dans son traité du sang et par MOUZON dans une revue critique sur les plaquettes du sang humain. Nous ne les répéterons pas. Il y a lieu pourtant de grouper et de critiquer les arguments qui, en se basant sur des résultats d'expériences récentes, se sont opposés aujourd'hui à la doctrine de WRIGHT.

Nous ne ferons que citer les observations de WINOGRADOW et VON SCHILING (1921) qui ont repris l'opinion, soutenue jadis par la plupart des hématologistes et notamment par MAXIMOW et WEIDENREICH, d'après laquelle les plaquettes dériveraient des restes nucléaires des hématies nucléées. Les auteurs la défendent surtout à la suite d'observations faites sur du sang fixé. Ils insistent sur les relations microchimiques qui existent entre plaquettes et substance nucléaire. Ils n'ont pas ajouté d'arguments positifs à ceux des auteurs plus anciens qui se sont ralliés eux-mêmes à la théorie de WRIGHT. Leur opinion est basée surtout sur des arguments négatifs.

Plus intéressants sont les travaux des auteurs italiens, PIANESE, FOTI et PERRONCITO.

PIANESE a fait une étude cytologique des mégacaryocytes à la suite de laquelle il a rejeté leur fonction macrophage. Cette opinion est conforme à ce que nous croyons avoir démontré par nos expériences avec les colorants vitaux. Il signale en outre qu'il n'existe pas un parallèle entre le nombre des plaquettes et celui des figures de WRIGHT. En réalité la rareté des figures de WRIGHT a frappé beaucoup d'observateurs. Il n'est pas rare de voir, au moins chez le lapin, des mégacaryocytes à prolongements pseudopodiques et à protoplasme

intensément chargé de granulations azurophiles. Assez fréquemment aussi, sur les frottis de moelle, on voit des fragments de ce protoplasme détachés de la cellule qui leur a donné naissance ; mais la répartition des grains azurophiles en petites agglomérations, ainsi qu'en présentent les plaquettes sur les frottis de sang colorés au Giemsa, est une image histologique rare, lorsqu'on étudie la moelle ou la rate contenant des mégacaryocytes. La rareté de ces figures est peut être due seulement au fait, démontré par Cesaris Demel, que les prolongements protoplasmiques à grains azurophiles poursuivent leur différenciation, lorsqu'ils sont déjà détachés de la cellule mère et entraînés dans le sang circulant d'où leur observation est naturellement plus hasardeuse. Mieux vaut, quand on cherche à mesurer s'il y a un parallélisme entre la fonction plaquettogène de l'organisme et l'état des cellules géantes, chercher à savoir si l'entièreté du protoplasme de celles-ci est chargé de grains azurophiles, ce qui ne peut d'ailleurs être fait qu'avec les colorants à base de Giemsa et seulement sur des frottis.

Pianese a fait en outre, l'observation suivante : En séparant une colonne de sang dans un vaisseau (carotide ou jugulaire), entre deux ligatures, et en soumettant le vaisseau ainsi ligaturé à l'action du froid, à de simples manipulations mécaniques ou à l'influence d'un caustique, on voit que le nombre des plaquettes augmente au bout de une à deux heures de ces traitements.

Polettini a répété cette expérience avec un résultat négatif. Nous nous sommes placés dans les mêmes conditions que Pianese et, à deux reprises, nous n'avons pu constater de différence entre le nombre de plaquettes mesuré par la méthode d'Aynaud, dans le vaisseau ligaturé (jugulaire), après une heure et le nombre de plaquettes mesuré au niveau de la jugulaire du côté opposé, au début de l'expérience. Nous nous demandons si Pianese, qui a adopté l'opinion de Wooldridge concernant la nature des plaquettes, a vérifié si les éléments, qu'il a numérés comme plaquettes, présentent les réactions colorantes caractéristiques de ces dernières,

lorsqu'ils sont colorés au Giemsa et leurs caractères morphologiques lorsqu'ils sont examinés sur le frais.

Foti a étudié la plaquettose qui suit l'intoxication par la pyrodine. On sait que, injectée in vivo, cette substance produit en un temps très court, l'augmentation du nombre des plaquettes ; au bout de ce même laps de temps (une à deux heures), les plaquettes augmentent fortement de volume, au point d'atteindre parfois les dimensions d'un globule rouge. Foti a admis qu'il y avait un parallélisme entre la destruction des globules rouges par la pyrodine (poison hémolysant), et l'augmentation des plaquettes, et il en conclut que les plaquettes géantes observées ne sont que des formes d'involution de globules rouges, formes particulièrement abondantes en raison de la production de plaquettes ; celles-ci dériveraient des globules rouges vieillis.

Perroncito (1920 et 1921) a, lui aussi, étudié l'action de la pyrodine. Il insiste sur la valeur insuffisante des arguments morphologiques, sur lesquels se base la doctrine de Wright. Nous ne relèverons pas cette partie de l'argumentation de Perroncito, dont la discussion a été faite récemment par Di Guglielmo. Nous ajoutons simplement que nous avons rejeté, en nous basant sur des faits positifs et non seulement des interprétations d'images, le pouvoir phagocytaire des mégacaryocytes, admis par Perroncito et considéré par lui comme la seule fonction de ces cellules. Il constate en outre que la plaquettose consécutive à l'intoxication par la pyrodine, ne persiste pas après défibrination complète du sang, ce qui est en faveur, dit-il, d'une origine sanguine des plaquettes (1). Il emploie les méthodes modernes de numération de plaquettes, mais son travail ne donne pas les résultats des numérations obtenues; nous savons d'autre part, par notre propre expérience, combien il est difficile d'enlever complètement, par la défibrination, les plaquettes du lapin, condi-

(1) Dans sa thèse, qui constitue une vue d'ensemble si précieuse de nos connaissances sur les plaquettes, Mouzon a, par erreur, fait dire le contraire à Perroncito (page 53 de la thèse).

tion préliminaire pourtant indispendable pour que, dans l'opinion de PERRONCITO, la plaquettose de la pyrodine ne se produise pas. Il a fait, in vitro, une série d'expériences au cours desquelles il a observé toutes les précautions conseillées dans la technique moderne pour l'étude des plaquettes sur le frais (procédé de AYNAUD-FOTI). Ces expériences lui ont montré que lorsque, à du sang citraté à 1 % recueilli en vase paraffiné, on ajoute une solution de pyrodine à la concentration de 6 ctgr. % et qu'on place le mélange à l'étuve, on observe la même augmentation du nombre des plaquettes et endéans les mêmes limites de temps que in vivo. Pour PERRONCITO, c'est là une nouvelle preuve que la multiplication des plaquettes peut se faire dans le sang et n'est pas en relation avec les organes hématopoïétiques. Il nous paraît que ces expériences, pas plus que celles de FOTI, ne prouvent rien quant au mécanisme normal de la régénération des plaquettes. Il est certain que la plaquettose que produit l'injection de pyrodine, en deux heures de temps, n'est pas due au même mécanisme qu'une régénération de plaquettes se produisant, par exemple, après leur enlèvement partiel par la défibrination. Nous avons vu que, chez le lapin, il faut trois jours pour que le chiffre des plaquettes revienne dans ces conditions à la normale. Le fait même qu'il y a une modification in vitro, lorsqu'on mélange du sang à un poison aussi violent que la pyrodine, fait admettre que la multiplication observée n'est pas un processus physiologique normal. PERRONCITO, en faisant le contrôle morphologique de ses expériences, admet que la multiplication des plaquettes, ainsi produite in vitro, est due à une véritable division karyokynétique et il les assimile à de véritables cellules. Cette conception a déjà été critiquée plus d'une fois ; on a notamment insisté sur le fait que, si la substance constituant les plaquettes est riche en phosphore et en nucléine, on n'est pas autorisé à la considérer comme de la véritable chromatine (coloration imparfaite avec le vert de méthyle, la thionine, la safranine, l'hématéine) et il faudrait admettre qu'il s'agit là d'une substance nucléaire différente de celle de toute autre cellule de l'organisme des

mammifères et comparable seulement à celle de certains parasites inférieurs, tels que les trypanosomes ou les hématozoaires (Mouzon).

En résumé, bien que nous n'ayons pas d'expérience personnelle de la plaquettose produite par la pyrodine, les observations de Foti et Perroncito ne nous paraissent pas être un obstacle à l'admission de l'hypothèse de Wright.

Quant aux nombreuses observations cliniques qui sont invoquées contre cette hypothèse, elles n'ont de valeur que si elles sont accompagnées d'une étude cytologique des mégacaryocytes du tissu myéloïde. Nous avons montré que la présence de beaucoup de mégacaryocytes dans les tissus ne suffisait pas pour avoir beaucoup de plaquettes dans le sang circulant : il faut voir où en est la différenciation des mégacaryocytes. En outre il faut se garder de considérer que seule la production ou la non production de plaquettes suffit à faire varier leur nombre dans le sang périphérique, erreur fréquemment commise même par les auteurs qui, comme Duke, ont déjà apporté une très belle contribution à nos connaissances sur ces éléments ; toute étude clinique ou expérimentale de la courbe des plaquettes doit tenir compte du processus de destruction et s'assurer aussi si elles ne sont pas fixées quelque part dans l'arbre circulatoire, fait qu'il n'est naturellement pas toujours possible de vérifier. Quant à la thrombophagie qui serait exercée par une rate ou un tissu endothélio-réticulé, dans lesquels se seraient en même temps différenciés des mégacaryocytes, elle ne prouve rien contre la doctrine de Wright, comme le croit Godlewski lorsqu'il rapporte les considérations de P. E. Weil. Nos connaissances sur l'hysto-physiologie du tissu endothélio-réticulé, quel que soit son siège, ont suffisamment établi que si certains éléments y sont surtout différenciés vers la fonction macrophage ou phagocytaire, fonction qui peut s'exercer aussi aux dépens des plaquettes, d'autres éléments sont doués de potentialités hématogènes, ainsi que le montre notamment la facilité avec laquelle on produit une métaplasie myéloïde.

CHAPITRE V.

Conclusions et Résumé.

1° Les recherches exposées dans ce mémoire apportent des arguments nouveaux à l'hypothèse de WRIGHT, considérant que les plaquettes se différencient dans le protoplasme des mégacaryocytes du tissu myéloïde. Elles ont été faites sur des lapins qui avaient reçu des injections de saponine et sur des lapins dont le sang avait été défibriné.

2° Une étude préalable de l'intoxication par la saponine est faite ; il y est établi : 1° que, malgré son action hémolysante, ce poison, injecté à fortes doses dans les veines (plus de 6 mmgr par kilo), produit en quelques heures une polyglobulie par excrétion, dans le sang circulant, d'hématies jeunes et d'érythroblastes, incomplètement différenciés et jusque là fixes dans la moelle osseuse ; 2° que contrairement à ce qui est admis dans les traités classiques (FOA et EPPINGER), la saponine injectée à petites doses répétées (1 à 3 mmgr. par kilo), stimule toutes les potentialités myéloïdes de l'organisme, produisant une hyperplasie des moëlles osseuses et une métaplasie myéloïde de la rate, du foie, et, chez les animaux splénectomisés, des ganglions lymphatiques. La moelle osseuse est pourtant troublée dans son fonctionnement normal par un facteur qui empêche partiellement l'hématopoïèse. A la suite d'une dilatation considérable des capillaires de la moelle, des ruptures vasculaires se produisent, peut-être à cause d'une action toxique spécifique de la saponine sur l'endothélium des capillaires ; la circulation n'est plus maintenue ; des infarctus se produisent qui, à la longue, se cicatrisent et des portions de moelle deviennent fibreuses.

3° BUNTING avait vu que la saponine faisait diminuer les plaquettes du sang. Nous avons reconnu que l'action de la saponine in vivo est une action lytique pour les plaquettes

et non pas une action de choc dû à l'état colloïdal que présente la saponine en solution. La saponine fait disparaître les plaquettes lentement et progressivement ; on ne retrouve pas d'amas de plaquettes dans les coupes d'organes, ni dans la circulation viscérale, lorsqu'elles ont disparu, pour la plupart, du sang périphérique. La saponine, in vitro, lyse les plaquettes après les avoir agglutinées et cela à des concentrations où elle lyse aussi les globules rouges contenus dans le plasma ; observation qui confirme des expériences analogues de AYNAUD.

4° La métaplasie myéloïde de la rate et des ganglions lymphatiques de lapins splénectomisés s'adapte aux besoins les plus urgents de l'organisme. Alors qu'au cours d'une intoxication prolongée par la saponine, il devient impossible de produire de l'anémie, et que le chiffre des plaquettes est très bas, les seuls éléments myéloïdes, qui se différencient dans les organes hématopoïétiques accessoires, sont des mégacaryocytes, preuve indirecte de la théorie de WRIGHT.

5° Malgré l'abondance de mégacaryocytes dans les organes à potentialités myéloïdes, la courbe des plaquettes ne se révèle pas pendant une période qui peut aller jusque 10 jours après la dernière injection de saponine : l'évolution des mégacaryocytes est inhibée, ils ne dépassent pas le stade lymphoïde et n'arrivent pas au stade granuleux, le seul où la fonction plaquettogène puisse s'exercer.

Il est probable que la même chose peut se passer dans beaucoup de cas cliniques où l'on invoque, contre la théorie de WRIGHT, la présence concomitante d'une thrombopénie et d'un grand nombre de mégacaryocytes dans les tissus myéloïdes.

6° La majorité des mégacaryocytes arrêtés dans leur évolution contiennent des leucocytes polynucléaires. Ceux-ci sont les seuls éléments cellulaires présents dans le corps protoplasmique des cellules géantes. Il n'y a pas d'indice d'une fonction macrophage des mégacaryocytes ; les leucocytes qui s'y trouvent y sont entrés activement et les désagrègent ; ils partici-

pent activement à la dégénérescence de la cellule qu'ils ont envahie.

7° Des expériences avec le bleu trypan indiquent que contrairement à ce qui est admis par plusieurs auteurs les mégacaryocytes n'ont pas de pouvoir phagocytaire.

8° Chez cinq lapins le nombre des plaquettes du sang circulant a été diminué par défibrination partielle du sang. Contrairement à ce qui avait lieu pour la saponine, la régénération complète des plaquettes était achevée en trois jours; à ce moment, la majorité des mégacaryocytes de la moelle sont au stade à grains azurophiles, donc prêts à élaborer des plaquettes.

9° L'hypothèse de FERRATA concernant l'élaboration de plaquettes aux dépens de cellules monocytoïdes est discutée. Des images de monocytes du sang circulant contenant un grand nombre de plaquettes dans leur protoplasme doivent être interprétées non pas en faveur de la théorie de FERRATA, mais comme des images de destruction de plaquettes.

10° Les travaux récents de FOTI, PIANESE et PERRONCITO sont discutés. Ils ne montrent pas que les plaquettes ne sont pas élaborées par les mégacaryocytes.

* * *

La démonstration morphologique de l'hypothèse de WRIGHT a été faite, depuis WRIGHT, par de nombreux auteurs. Récemment, KAZNELSON a décrit et figuré le même processus chez l'homme, où SCHRIDDE n'avait pu le faire. Nous ne nous sommes donc pas attaché ici à faire cette démonstration, mais nous avons fourni d'autres arguments à la théorie de WRIGHT, en montrant le parallélisme qui existe entre la production de plaquettes et le stade d'évolution de mégacaryocytes néoformés sous le stimulus d'une destruction artificielle de plaquettes. Ces arguments nouveaux nous paraissent utiles, parce qu'ils réduisent à néant, ou au moins obligent à réexamen, les observations cliniques nombreuses invoquées contre l'hypothèse de WRIGHT. Nous avons

eu l'occasion de démontrer la faiblesse des faits expérimentaux invoqués contre cette hypothèse.

Le débat actuel sur l'origine et la régénération des plaquettes nous paraît devoir entrer dans une nouvelle phase. En effet, il n'est plus guère douteux que les mégacaryocytes produisent des plaquettes. Mais il importe de savoir d'une façon plus précise, quels facteurs règlent l'évolution de ces mégacaryocytes, problème jusqu'ici peu envisagé. Reprenant l'idée de KLEMPERER et HIRSCHFELD, FRANCK croit que la rate exerce normalement sur eux une action régulatrice. Cette action pourrait être inhibée dans certains cas (notamment par l'irradiation splénique), renforcée dans d'autres cas où il y a thrombopénie (purpuras, anémie aplastique). Nos recherches nous ont montré que des mégacaryocytes néoformés dans les tissus pouvaient, expérimentalement, être arrêtés dans leur évolution. Il y a lieu de voir si, dans certains états pathologiques, la même chose ne se produit pas et il y a lieu, sous ce rapport, de vérifier la valeur de la conception de FRANCK quant au rôle joué par la rate.

La question de savoir s'il existe un autre mécanisme de production de plaquettes est importante, car de sa solution dépend en partie celle de la pathogénie des syndromes purpuriques. La réalité d'un tel mécanisme, chez l'adulte, n'a pas jusqu'ici été démontrée.

Mais à ces recherches sont liées aussi celles qui concernent la destruction normale ou pathologique des plaquettes. Il est certain que l'appareil endothélioréticulé, « le Milz Apparat » d'ASSCHOFF, joue un rôle capital dans l'évolution des plaquettes. C'est en lui qu'elles s'élaborent, mais il semble bien que c'est en lui aussi qu'elles se détruisent. Les observations cliniques, qui signalent une destruction massive de plaquettes dans la rate, sont de plus en plus nombreuses. La conception, d'après laquelle la thrombopénie des syndromes purpuriques est le résultat de cette destruction exagérée de plaquettes dans la rate, devait naître.

Il est probable que cette propriété n'est pas l'apanage de la rate seule, mais de tout l'appareil endothélioréticulé (KAZ-

NELSON) ; c'est ce que fait croire l'inconstance des résultats favorables, fournis en clinique, par la splénectomie, dans des cas de purpuras symptomatologiquement fort semblables et surtout les rapports histophysiologiques étroits que nous savons exister entre les différentes portions de cet appareil (fixation vitale du carmin, de la cholestérine, du fer, érythrophagie ; hyperplasie vicariante de l'une des parties de l'appareil en l'absence de l'autre ; hyperplasie cellulaire pathologique de la maladie de GAUCHER) (1).

C'est dans le même tissu que sont fixées en peu de temps, toutes particules solides fines (bioxyde de manganèse) ou toute suspension microbienne injectées dans le torrent circulatoire. L'étude analytique des facteurs qui président à la fixation, puis à la phagocytose des plaquettes dans cet appareil, doit encore être faite.

Nous espérons pouvoir orienter nos recherches futures dans ces directions.

Mai 1922.

---

(1) Voir à ce propos les travaux de KIYONO, d'ANITSCHKOW, de LANDAU et MC NÉE, de LEPEHNE, de PEARCE et AUSTIN ; de C. K. DRINKER.

APPENDICE

Au cours de la période pendant laquelle ces recherches ont été faites, nous avons pu observer deux cas cliniques, suivis d'autopsie, qui illustraient certaines des conceptions développées dans ce travail.

Conscients de ce que les résultats expérimentaux ne peuvent que gagner à être confrontés avec des observations cliniques, nous désirons faire suivre, en annexe aux présentes recherches, le rapport de ces deux observations.

Appendice nº I.

Cette observation fut en réalité ce qui servit de point de départ à notre étude de l'anémie expérimentale produite par la saponine. Le problème suivant de pathologie sanguine se présentait à nous : comment peut-il exister, concomitamment, au cours d'une anémie grave, une aplasie des tissus myéloïdes normaux (moelle osseuse) et une métaplasie myéloïde de la rate et du foie. Comme les traités classiques admettaient que la saponine produit un état pathologique de ce genre, nous avions cru, en nous en servant, solutionner ce problème.

Résumé de l'histoire clinique. — John W..., homme robuste, âgé de 40 ans, s'affaiblit graduellement au cours du mois de décembre 1920, mais il continua son travail jusqu'au 11 janvier 1921. Bientôt, la fatigue et la dyspnée devinrent telles qu'il dut s'aliter. Presqu'en même temps, apparut de l'œdème malléolaire, de la bouffissure de la face. Le 13 janvier, l'examen du sang montra : 1.740.000 globules rouges ; 53.000 globules blancs; 25 % d'hémoglobine. Deux jours après, il était dans un demi coma. Son sang montrait 1.272.000 globules rouges ; 4.200 globules blancs et 17 % d'hémog. La valeur globulaire 0.71 ; anysocytose, poïkilocytose, très peu

de normoblastes ; dans la formule hémoleucocytaire, seulement 6 % de myélocytes ; il n'y avait pour ainsi dire pas de plaquettes (+ ou — 20.000). Malgré deux transfusions de sang citraté, le coma devint plus profond, le pouls s'affaiblit et la mort survint le 20 janvier, soit un peu plus d'un mois après le début supposé de l'affection.

Autopsie (1). — Le diagnostic anatomique peut se résumer comme suit : anémie extrême, hypertrophie de la rate, foyers de nécroses du foie et de la rate, nombreux foyers myéloïdes dans le foie et la rate, péricardite et pleurésie sérofibrineuse aiguës, tuberculose des ganglions du médiastin, foyers caséeux encapsulés du poumon gauche, bronchite catarrhale.

Les lésions tuberculeuses anciennes n'avaient joué aucun rôle dans l'évolution de l'affection fatale. La péricardite et la pleurésie étaient, à coup sûr, des infections survenue au cours des derniers jours de la maladie.

La lésion intéressante était l'aplasie totale des moëlles osseuses restées graisseuses ; à la suite de cette constatation, on était tenté d'admettre, à la fin de l'autopsie, le diagnostic d'anémie aplastique. L'absence de symptômes et de lésions hémorragiques (sauf une légère hémorragie du fond de l'œil), qui manquent rarement dans cette affection, laissait persister un doute sur le diagnostic final.

Les lésions microscopiques montrèrent une réaction myéloïde marquée du foie et de la rate, tout à fait inattendue, et des dépôts de pigment ferrugineux dans les tissus, nouveaux éléments pour abandonner le diagnostic d'anémie aplastique. L'hypothèse d'un empoisonnement fut envisagée, plus particulièrement d'un empoisonnement par le benzol, mais rien dans le genre de vie du patient n'avait pu le faire croire.

Au point de vue pathologique, deux points sont à retenir : 1° la formation localisée de tissus myéloïdes, qui entraînait la question suivante : Comment un poison peut-il empêcher

(1) L'autopsie de ce cas fut faite par notre collègue au Département de Pathologie de Johns Hopkins, le Dr ATHERN, qui nous permit très obligeamment d'en utiliser les renseignements.

l'hyperplasie du tissu myéloïde et permettre la métaplasie myéloïde d'autres organes ? Nous croyions répondre à cette question par notre étude de la saponine ; mais celle-ci a montré que ce poison produit des lésions vasculaires de la moelle, mais n'exerce pas une inhibition sur son activité. Le problème reste donc non résolu ;

2° La métaplasie myéloïde présentait des mégacaryocytes, comme éléments cellulaires prédominants, constatation anatomopathologique intéressante à rapprocher de la constatation, faite pendant la vie, d'une thrombopénie. Nous avons vu que de telles observations sont assez fréquentes, et qu'il se peut fort bien que la différenciation complète de ces mégacaryocytes ait été entravée et qu'ils n'aient pu arriver au stade plaquettogène. Ceci n'a pu être vérifié néanmoins, car les méthodes d'examen utilisées ne le permettaient pas.

Dans un cas de ce genre, en reprenant la conception de Franck, on pourrait fort bien croire qu'une influence inhibitrice s'est exercée sur les tissus myéloïdes de tout l'organisme, mais que l'action inhibitrice a été plus forte sur les moelles osseuses et aurait empêché totalement l'hyperplasie médullaire, plus faible sur les tissus myéloïdes accessoires, où elle n'aurait pas empêché la néoformation d'éléments myéloïdes, en face des pertes sanguines, mais aurait empêché leur complète différenciation.

Appendice II

Cette seconde observation, que nous devons à l'obligeance de M. le Professeur Louis Delrez, souligne à notre avis la distinction qu'il y a lieu de faire, quand on cherche à se rendre compte du fonctionnement de la moelle osseuse, entre la différenciation des éléments myéloïdes (normoblastes, myélocytes, et mégacaryocytes) et leur déversement dans le sang circulant. Elle est un exemple d'anémie grave sans signe de régénération dans le sang périphérique et avec hyperplasie de la moelle.

Résumé de l'histoire clinique. — Petit garçon de 10 ans, ayant fait, dans l'espace de 6 mois, différentes infections, peut-être diphtériques, mais non vérifiées bactériologiquement. Vers le début de février, l'enfant devient anémique ; en même temps, il fait une infection du côté des gencives, pyorrhée alvéolodentaire et une plaque de gangrène. L'os ne paraît pourtant pas profondément atteint. L'anémie progresse rapidement, l'enfant devient très dyspnéique ; il a de la fièvre, il n'a pas présenté de signes de purpura ni de tendance aux hémorragies à l'occasion d'extraction dentaire. Deux examens de sang, faits au cours de la quatrième semaine de l'affection, ont donné 800.000 et 984.000 globules rouges. Au dernier examen, la valeur globulaire est égale à 1.01 ; l'hémoglobine à 18 % ; les plaquettes à 48.500 ; le temps de coagulation à 5 minutes ; 5.000 leucocytes. Les plaques de sang donnent une formule hémoleucocytaire quasi normale. Il y a de la poïkilocytose et de l'anisocytose ; pas de normoblastes, pas de myélocytes. Les deux derniers jours avant sa mort, l'enfant fait de la broncho-pneumonie. Malgré une transfusion de sang, l'état s'aggrave ; l'enfant meurt le 7 mars, soit un mois après le début de l'infection.

Le diagnostic clinique le plus probable était : anémie aplastique avec broncho-pneumonie terminale. Un doute pourtant persistait quant à la nature infectieuse de cette anémie, malgré plusieurs hémocultures restées négatives.

A l'autopsie, on constata des signes de septicémie récente avec de l'endocardite végétante mitrale, due peut être à du streptocoque. Il y avait des infarctus de la rate ; de la broncho-pneumonie lobulaire avec bronchiolite due au même organisme.

L'origine infectieuse de l'anémie reste pourtant incertaine. La constatation particulièrement intéressante au point de vue rappelé dans ce travail (voir action des fortes doses de saponine), est l'hyperplasie de la moëlle osseuse. Différents frottis de sang n'avaient montré, pendant la vie, aucun élément myéloïde jeune et l'on peut s'en étonner,

étant donné leur abondance, comme éléments fixes, dans la moelle. Nous nous sommes trouvé ici. dans des conditions opposées, en ce qui concerne le déversement des cellules myéloïdes dans le courant sanguin, à celles où nous plaçait l'injection d'une forte dose de saponine. Un seul facteur paraissait commun aux deux états : la destruction intense des hématies.

EXPLICATION DES MICROPHOTOGRAPHIES.

PLANCHE XI.

FIG. 1. — Coupe de la rate du lapin 68, injecté de saponine pour la dernière fois 5 jours auparavant, et coloré vitalement par le bleu trypan. Les grains noirs que l'on voit sur la microphotographie sont des grains de pigment et des grains de bleu vital ; ils sont contenus dans les macrophages et dans les cellules de la pulpe. Le mégacaryocyte visible au milieu de la microphotographie n'a pas englobé de particule de pigment ou de colorant.

FIG. 2. — Mégacaryocyte envahi par des leucocytes polynucléaires dans un ganglion lymphatique d'un lapin splénectomisé, intoxiqué par la saponine (lapin 52).

FIG. 3. — Métaplasie mégacaryocytaire de la rate d'un lapin intoxiqué par la saponine.

FIG. 4. — Mégacaryocyte embolique déformé, dans les capillaires du poumon, d'un lapin intoxiqué par la saponine (lapin 57).

FIG. 5. — Métaplasie myéloïde à prédominance de mégacaryocytes d'un ganglion lymphatique chez un lapin splénectomisé, intoxiqué par la saponine.

FIG. 6. — Tissu sous-péritonéal d'un lapin ayant reçu des injections de bleu trypan dans la cavité péritonéale. Les cellules chargées de grains noirs sont des clasmatocytes ; les autres cellules conjonctives ne collectent pas le colorant vital (lapin 52).

FIG. 7. — Champ microscopique d'un frottis de sang d'un lapin, 20 heures après l'injection d'une forte dose de saponine : 5 normoblastes sont visibles dans le champ.

FIG. 8. — Hyperplasie de la moelle d'un lapin intoxiqué par la saponine ; nombreux mégacaryocytes, dont quelques-uns sont envahis par des leucocytes.

FIG. 9. — Moelle osseuse d'un lapin mort 34 heures après l'injection d'une forte dose de saponine, montrant l'énorme dilatation des capillaires (lapin 56).

FIG. 10. — Moelle osseuse d'un lapin ayant reçu, pendant environ 3 semaines, des injections répétées de petites doses de saponine. La microphotographie montre, dans le quart supérieur gauche du tissu cicatriciel, dans les trois quarts restants, le tissu myéloïde fortement altéré et partiellement nécrosé.

EXPLICATION DES DESSINS.

PLANCHE XII.

Tous les dessins ont été faits à la chambre claire. Projection sur la table. Pour les figures 3 à 9, le grossissement employé était l'Homog. Im. Zeiss 1/12 Oc. Comp. nº 6 ; pour les figures 1 et 2, l'objectif achromatique F. 43 Oc. Comp. nº 6. La longueur du tube est de 160 millimètres.

Les préparations, d'après lesquelles ces dessins sont faits, sont des frottis colorés au Panchrome de Laveran, avec différenciation à l'acétone et montage au baume. Les dessins 3 et 4 ont été faits d'après des coupes congelées (3) et paraffinées (4) de tissus fixés au formol et colorés à la fuchsine de Ziehl diluée.

DESSIN 1. — Mégacaryocyte, à la fin de la période lymphoïde, provenant d'un frottis de rate du lapin 57, injecté de saponine, 7 jours après la dernière injection. Le protoplasme est granuleux, mais ses grains ne sont pas encore colorés au rose lilas vif, ainsi qu'ils le seront à la fin de leur évolution. Les cellules, qui se trouvent à l'intérieur du cytoplasme, et qui font croire à un pouvoir phagocytaire du mégacaryocyte, doivent être considérées comme imprimées dedans lors de l'étalement.

DESSIN 2. — Mégacaryocyte à la fin de sa période de différenciation, présentant un prolongement pseudopodique ; un cytoplasme entièrement chargé de grains azurophiles avec, à l'extrémité droite, un corps plaquettoïde déjà individualisé.

DESSIN 3. — Mégacaryocyte dans la rate d'un animal coloré vitalement par le bleu trypan. Toutes les cellules de la pulpe et les macrophages sont chargés de bleu ; quelques-unes de pigment. Le mégacaryocyte lui-même est envahi par des leucocytes, mais n'a pas phagocyté le colorant vital, bien que celui-ci soit arrivé à son contact.

DESSIN 4. — Même explication que pour le dessin 3.

DESSIN 5. — Cellule monocytoïde dans le sang circulant du lapin 57, dont le protoplasme contient un grand nombre de plaquettes, probablement phagocytées. La basophilie du protoplasme plaide en faveur de cette opinion.

DESSIN 6. — Même explication que pour le dessin 5. Il convient de noter qu'ici le protoplasme fibrillaire et basophile typique des macrophages et leur noyau légèrement incisé se remarque mieux encore que sur le dessin précédent.

DESSIN 7. — Cellule monocytoïde à protoplasme basophile et à grains azurophiles, dans le sang circulant (cellule du groupe grand mononucléaire de transition d'EHRLICH). Un polynucléaire et des globules rouges.

DESSIN 8. — Cellule monocytoïde à nombreux grains azurophiles, images qui ont servi d'appui à la doctrine de FERRATA. Un leucocyte et des globules rouges.

DESSIN 9. — Cellule monocytoïde macrophage fixe de la pulpe splénique, contenant également des grains azurophiles et des grains de pigment ferrugineux, entourées de globules rouges mûrs et de globules à protoplasme moins hémoglobinifère. Trois cellules de la pulpe splénique et un leucocyte basophile. La cellule monocytoïde, dont la propriété macrophage est bien connue, ne diffère guère de celles qui se trouvent représentées dans les figures précédentes et qui contiennent soit des grains azurophiles, soit des plaquettes.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

ACHARD et AYNAUD. — *C. R. Soc. de Biologie*, 7 décembre 1907.
— — *Ibid.*, 23 mai 1908.
— — *Ibid.*, 21 novembre 1908, p. 459.
— — *Arch. de médecine expérimentale*, 1909, p. 754.
ANITSCHKOW. — *Ziegler Beitrage*, 1913, Bd. 57, p. 201.
ASCHOFF. — *Virchow's Archiv.*, Bd. 130, 1892.
ASCHOFF et KIYONO. — *Folia Haematologica*, 1913, XV, p. 383.
AYNAUD. — *Thèse de Paris*, 1909.
— Article « Globulin». Traité du Sang de Gilbert et Weinberg, t. 1, 1913. Paris, Baillères.
— *C. R. Soc. de Biologie*, 21 mars 1914, p. 480.
BATTOZZI. — Cité par CHEVALIER in La rate et l'Hématie, *Journal Médical Français*, novembre 1920.
BERNHARDT. — *Ziegler Beitrage*, 1913, Bd. 55, p. 35.
BIZZOZERO. — *Arch. italiennes de Biologie*, 1891, t. 16, p. 375.
BLUMENTHAL et MORAWITZ. — *Arch. F. Klin. Med.*, 1908, t. 92, p. 25.
BORDET et DELANGE. — *Annales de l'Institut Pasteur*, mai 1913, p. 341.
BOUFFARD. — *Ibid.*, 1906, p. 539.
BRASS. — *Archiv. fur Microscopische Anatomie*, Bd. 82, p. 61, 1913.
BROWN. — *Journal of experimental medecine*, 1913, XVIII, p. 278.
BROUN et KINSELLA. — *Journal of American medical association*, 1920, LXXIV, 1670.
BUNTING. — *Journal of experimental medecine*, V, XI, 190.
— *Journal of experimental medecine*, 1906.
— *Johns Hopkins Hospital Bulletin*, V, XXXI, n° 358, décembre 1920.
CLARK et EVANS. — *Ibid.*, vol. XXXI, n° 356, octobre 1920.
DELREZ et GOVAERTS. — Travaux de l'ambulance *Océan*, La Panne, t. II, fasc. I, juillet 1918.
DENYS. — *La Cellule*, t. 2, p. 245, 1886.
DI GUGLIELMO. — *Folia Medica*, 1917 et *Haematologica*, t. 1, 1920, p. 303.
DOMINICI. — Cité par CHEVALIER in *Journal Médical Français*, décembre 1920.
— *Arch. de Médecine expérimentale*, janvier 1901 et *Arch. d'Anatomie microscopique*, 1920.
DOWNEY. — *Folia Haematologica*, 1913, Bd. 15.
— *Anatomical Record*, 1917, XI, p. 350 et 1918, XIV, p. 34.

CESA-BIANCHI. — *Haematologica*, vol. II, fasc. I, 1921.
CESARIS-DEMEL. — *Archives italiennes de Biologie*, t. LXIX, fasc. III, 1919.
CHARIER et CHARLET. — cités par CHEVALIER in La Rate et l'Hématie. *Journal Médical Français*, novembre 1920, t. IX, nº 11.
EPPINGER. — *Encycl. der Klin. Medizin Julius Springer*, 1920. Berlin, Die Hepato-lienalen Erkrankungen.
EVANS, H. M. — *American Journal of Physiology*, vol. 37, mai 1915.
— et SCHULEMANN. — *Science*, 1914, XXXIX, p. 443.
— et SCHOTT. — *Contributions to Embryology*, 1921, X Publication, nº 273. *Carnegie institution to Washington.*
FERRATA. — *Le Emopatie*, 1918, parte generale. Ed. Libraria, Milano.
— *Haematologica*, vol. 2, fasc. 2, et vol. I.
— et NEGREIROSRINALDI. — *Folia Medica*, 1915.
FOA. — *Ziegler's Beitrage*, Bd. 25, 1899. Tratt. di Anat. path. 1910.
FOTI. — *Archiv. di Fisiologia*, fasc.3, 1913.
FRANCK. — *Berliner Klinischen Wochenschrift*, 1915, nº 18, et 1916, nº21.
ISAAC et MOCKEL. — *Kongr. fur innere Medizine*, 1910, 471.
GODLEWSKI. — *Journal Médical Français*, t. XI, nº 1, janvier 1922.
GOLDMANN. — Neue untersuchungen ueber die äussere und innere Sekretion des Gesunden und kranken Organismus im Lichte des vitale Farbung, 1912. Tubingen.
JOLLY. — *Archives d'Anatomie microscopique*, 1909, t. II, p. 94.
JORDAN. — *American Journal of Anatomy*. 15 juillet 1920, vol. 27, nº 3.
KAZNELSON. — *Deutsche Mediziner Wochenschrift*, 1918, Bd. 1, p. 114.
— *Zeitschrift fur Klinische Medizine*. 1919, Bd. 87.
KLEMPERER et HIRSCHFELD. — *Therapie des Gegenwart*. nº 19, 1913 (cités par KAZNELSON).
KOBERT. — Lehrbuch der Intoxicationen, 2e édition, 1906.
LEPEHNE. — *Deutsche Med. Wochenschr.*, 1914, nº 27.
LESOURD et PAGNIEZ. — *C. R. Soc. de Biol.*, 21 octobre 1911, p. 308.
— — *Ibid.*, 15 mars et 19 avril 1913, pp. 580 et 738.
— — *Journal de Physiologie et de Pathologie générale*, janvier 1911, p. 56.
LILLIENFELD. — *Arch. fur. Physiol.*, 1892.
MAC CALLUM, W. G. — A Textbook of Pathology. Saunders and Cº, Philadelphia et Londres. 2e édition.
MAC NEIL. — Cité par PEARCE et KRUMBHAAR.
MARCHAND. — *Verh. der deutschen Path. Gesellsch.*, 1912-1913, XV et XVI.
MAC NEE. — Cité par KAZNELSON, p. 139.
MAXIMOW. — *Arch. fur Mikr. Anat.*, 1906, KXVIII, p. 680.
— *Ibid.*, 1910, lxxvi, p. 1.
MOUZON. — *Thèse de Paris*, 1921. Art. dans *Presse Méd.*, septembre 1921 (donne bibliogr. complète du problème des plaquettes).

MANWARING and COE. — *Proc. of the Soc. for Exp. Biolog. and Med.*, mai 1905, t. III.
NAEGELI. — Blutkrankheiten und Blutdiagnostik. 1912. von Veit et Cº.
NOLF, P. — Article *Hémolyse* in Dict. de Phys. de Ch. Richet.
— La coagulation du sang, in Traité de Gilbert et Weinberg. 1913. Baillières.
OGATA. — *Ziegler's Beitraege*. Décembre 1911, Bf. LII, p. 192.
PAGNIEZ et MOUZON. — *C. R. de la Soc. de Biol.*, 5 juin p. 157.
PAPPENHEIM. — *Morphol. Haematolog.*, Bd. 1, ou *Folia Haematol.*, 1919, Bd. XXIII, p. 53.
PEARCE, KRUMBHAAR et FRAZEL. — Spleen and Anemia. Lippincott. Philadelphia, 1918.
PERRONCITO. — *Haematologica*, janvier 1920, t. I, p. 3, et juin 1920, p. 263.
— *Ibid.*, vol. II, fasc. 3, juillet 1921, p. 510.
PIANESE. — *Ibid.*, t. 1, pp. 61 à 110.
PORT et AYAMA. — *Deutsches Arch. f. Kl. Med.*, Bd. 106, p. 362, 1912.
PREISICH et HEIM. — *Virchow's Arch.*, 1904, Bd. 178, p. 43.
RANSOM. — *Deutsche Med. Wochenschr.*, 1901, XXVII, p. 194.
REITANO. — *Haematologica*, vol. II, fasc. 2, 0. 384, 1921.
RENAUT. — *Arch. d'Anat. Micr.*, t. IX, 1907.
ROGER et JOSUE. — Cité par RUBENS-DUVAL.
RUBENS-DUVAL. — Organes hématopoiétiques. in Traité du Sang de Gilbert et Weinberg. Baillières, 1913.
ROSKAM. — *C. R. Soc. de Biol.*, 1920 et 1921.
SABIN. — *Johns Hopkins Hospital Bulletin*, 1921, XXXII, 314.
— *Physiological Reviews*, p. 38, V, II, nº 1, 1922.
SAPEGNO. — *Arch. per le Scienze Mediche*, vol. XXXII, 1908.
SCHILLING. — *Virchow's Archiv*, Bd. 234, 1921.
SHIPLEY. — *American Journal of Physiology*, 1919, XLIX, p. 284.
SIMPSON. — *Anat. Record. Proc. of the American Assoc. of Anat.*, 1921.
VAN DER STRICHT. — *Archives de Biologie*, t. 12, p. 199, 1892.
WELLS. — *Chemical Pathology*. Saunders & Cº, Philadelphia et Londres, 1918.
WINOGRADOW. — *Folia Haematologica*, Bd. XVIII, 1914.
WRIGHT. — *Journal of Morphology*, vol. 21, 1910, et *Virchow's Arch.*, Bd. 170, 1906.

TABLE DES MATIÈRES

Thèses 3
Introduction 5
Techniques employées 10
Chapitre I. — Etude de l'intoxication par la saponine ... 15
Action générale du poison 15
Tests hémolytiques in vitro 16
Action de la saponine in vivo, non compris le problème des plaquettes 19
Chapitre II. — Les plaquettes et l'intoxication par la saponine 33
Action de la saponine sur les plaquettes 33
La régénération des plaquettes dans l'intoxication par la saponine 41
Etude cytologique des cellules géantes myéloïdes. Leurs fonctions. Court historique 44
Chapitre III. — Régénération des plaquettes après défibrination du sang 55
Chapitre IV. — Autres mécanismes de régénération de plaquettes 60
Critique des travaux récents rejetant la théorie de Wright 67
Chapitre V. — Conclusions et résumé 72
Appendice 77
Explication des microphotographies et des dessins 82
Index bibliographique 85
Table des matières 88